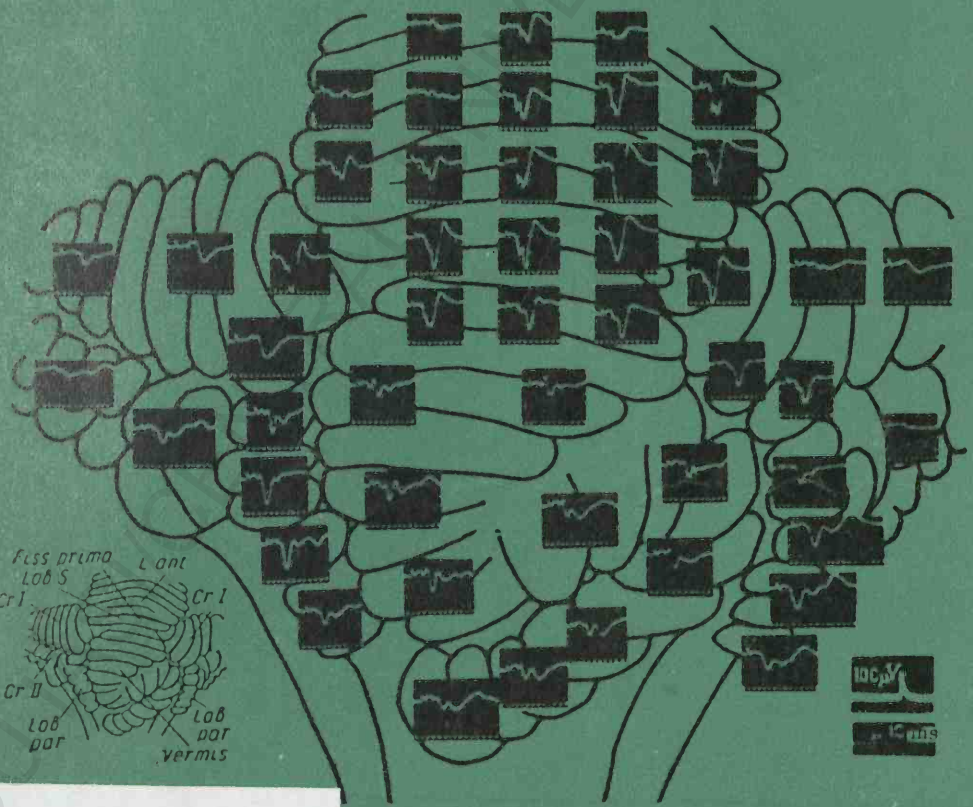
UNIVERSITATEA „AL. I. CUZA" IAȘI
FACULTATEA DE BIOLOGIE - GEOGRAFIE

Lector Dr. VASILE P. HEFCO

FIZIOLOGIE EXPERIMENTALĂ:
FUNCȚIILE DE RELAȚIE



UZ INTERN
IAȘI - 1976

III-6,308

BIBL. CENTR. UNIV.
"M. ... ESCU" IAŞI
B LOGIE
III-6308

BCU IASI/CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

UNIVERSITATEA „AL. I. CUZA" IAȘI

FACULTATEA DE BIOLOGIE-GEOGRAFIE

Lector Dr. VASILE P. HEFCO

Lucian Hritcu
UAIC IASI

FIZIOLOGIE EXPERIMENTALA:

FUNCTIILE DE RELATIE

298700
B.C.U. IASI

IAȘI - 1976

BCU IASI/CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

29.774
B.C.U. „M. EMINESCU" IAŞI
BIOLOGIE
II-6308

Universitatea "Al.I.Cuza" Iaşi
Centrul de multiplicare
Cda. 35

BCU IASI/CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

CUPRINS

CAPITOLUL I

Pag.

1.TESUTUL OSOS.....1

CAPITOLUL II

FIZIOLOGIA MUSCHILOR SI A NERVILOR.

2.COMPOZITIA MUSCHIULUI STRIAT.....5
A.Determinarea cantităţii de apă din muşchi.....5
B.Electroliţii tisulari 6
C.Separarea miozinei 7
D.Evidenţierea mioglobinei.....7
E.Glicogenul muscular.....8
3.PREPARATUL NEUROMUSCULAR SCIATIC-GASTROCNEMIAN.....9
4.EXTENSIBILITATEA SI ELASTICITATEA MUSCULARA.....13
5.INREGISTRAREA SI ANALIZA SECUSEI MUSCULARE.....15
6.ACTIUNEA TEMPERATURII ASUPRA SECUSEI.....18
7.RELATIA DINTRE INTENSITATEA EXCITANTULUI SI AMPLITUDINEA CONTRACTIEI MUSCHIULUI.....18
8.CONTRACTIILE TETANICE.....20
9.RELATIA DINTRE FORTA DE CONTRACTIE A MUSCHIULUI SI LUNGIMEA LUI INITIALA.....23
10.VOLUMUL MUSCHIULUI CONTRACTAT.....26
11.ERGOGRAFIA.....27
12.OBOSEALA MUSCULARA.....29
13.CONTRACTIA MUSCHILOR NETEZI.....34
14.CURBA EXCITABILITATII.CRONAXIA MOTORIE.....38
15.METODA BIOLOGICA PENTRU DEMONSTRAREA FENOMENELOR BIOELECTRICE IN TESUTURILE EXCITABILE.....43
Experienţa lui Galvani(contracţia fără metal),pentru demonstrarea curentului de repaus.....43
Experienţa lui C.Matteucii(tetanos secundar).Demonstrarea curentului de acţiune.....44
16.EVIDENTIEREA BIOPOTENTIALELOR CU AJUTORUL GALVANOMETRULUI...45
17.POTENTIALUL DE ACTIUNE AL NERVULUI INREGISTRAT CU AJUTORUL OSCILOGRAFULUI.....47
18.TEHNICA MICROELECTROZILOR.....51
19.POTENTIALUL DE REPAUS AL FIBREI MUSCULARE STRIATE.....56
20.POTENTIALUL DE ACTIUNE LA NIVEL CELULAR.....58
1-Derivarea intracelulară a potenţialului de acţiune de la fibra musculară striată.....60

2.Derivarea extracelulară a potenţialului de acţiune din neuronii corticali.....61
21.MECANISMUL TRANSMITERII SINAPTICE.POTENTIALUL POSTSINAPTIC EXCITATOR SI INHIBITOR.....62
22.ELECTROMIOGRAFIA.....65
1-Electromiografia globală la om.....67
2-Electromiografia elementară la om.....67
3-Inregistrarea electromiogramei la animale în experiment acut.....68
23.VITEZA DE TRANSMITERE A INFLUXULUI NERVOS PRIN NERV.....69
24.ELECTROTONUSUL FIZIOLOGIC.....72
25.LEGILE CONTRACTIEI ALE LUI PFLUGER.....75
26.LEGILE CONDUCERII INFLUXULUI NERVOS.....77

CAPITOLUL III

FIZIOLOGIA SISTEMULUI NERVOS CENTRAL.....79

27.ANALIZA ACTULUI SI ARCULUI REFLEX.....80
28.DETERMINAREA TIMPULUI REFLEX DUPA TÜRK.....82
29.DETERMINAREA INTIRZIERII SINAPTICE.....84
30.ZONE REFLEXOGENE ALE REFLEXELOR MEDULARE.....85
31.FIZIOLOGIA RADACINILOR NERVILOR RAHIDIENI. LEGEA BELL-MAGENDIE.....86
32.LEGILE REFLEXELOR EXTEROCEPTIVE MEDULARE.LEGILE LUI PFLÜGER91
33.INHIBITIA REFLEXELOR MEDULARE.....93
34.INHIBITIA CENTRALA A REFLEXELOR MEDULARE. EXPERIENTA LUI SECENOV (1862).....94
35.INERVATIA RECIPROCA A MUSCHILOR ANTAGONISTI.....96
36.TONUŞUL MUSCHILOR STRIATI.....97
37.REFLEXE MIOTATICE CU IMPORTANTA CLINICA.....98

FIZIOLOGIA ENCEFALULUI.

38.EXPERIENTA LUI SECENOV.....101
39.CONSECINTELE EXTIRPARII UNOR PARTI ALE ENCEFALULUI
A.Extirparea emisferelor cerebrale la broască.....102
B.Distrugerea unilaterală a cerebelului la broască.....103
C.Decerebrarea animalului-Rigiditatea de decerebrare.....104
40.EFECTELE MOTORII PRIN EXCITAREA EMISFERELOR CEREBRALE.....106
41.INREGISTRAREA BIOPOTENTIALELOR CREIERULUI LA OM-ELECTROENCEFALOGRAFIA..... 109

42.DERIVAREA POTENTIALELOR EVOCATE DE PE SCOARTA CEREBRALA...11.
43.PROPRIETATILE POTENTIALELOR EVOCATE PRIMARE SI SECUNDARE ALE SCOARTEI EMISFERELOR CEREBRALE.....115
44.POTENTIALELE EVOCATE CEREBELOASE.....118
45.TEHNICA STEREOTAXICA.....120
Experiment cronic.....126
Experiment acut.....131
Examinarea histologică a creierului.....131
46.ROLUL HIPOTALAMUSULUI IN TERMOREGLARE EVIDENTIAT PRIN LEZIUNI ELECTROLITICE.....133

METODA REFLEXELOR CONDITIONATE.....135
47.REFLEXELE CONDITIONATE DE EVITARE ACTIVA LA ANIMALE MICI DE LABORATOR.....135
A.Elaborarea reflexului condiţionat de evitare în cuşca tip navetă..... 136
B.Stingerea reflexului condiţionat de evitare în cuşca tip navetă..... 138
C.Elaborarea reflexului condiţionat de evitare activă în cutia labirint..... 138
48.REFLEXELE CONDITIONATE DE EVITARE PASIVA..... 139
A.Invăţarea unică şi rata de fixare a comportamentului pasiv de evitare..... 139
49.CONDITIONARI OPERANTE..... 140
50.ELABORAREA REFLEXULUI CONDITIONAT MOTOR ALIMENTAR..... 142
51.TEHNICA AUTOEXCITARII ANIMALULUI..... 143
52.OBSERVAREA INHIBITIEI EXTERNE A REFLEXELOR CONDITIONATE.. 146
53.FOLOSIREA ELECTROENCEFALOGRAFIEI PENTRU STUDIUL ACTIVITATII NERVOASE SUPERIOARE..... 146

CAPITOLUL IV.

FIZIOLOGIA ANALIZATORILOR.

54.PRAGUL DIFERENTIAL AL SENZATIEI..... 148
55.SENSIBILITATEA TACTILA.PRAGUL SPATIAL.ESTEZIOMETRIA..... 149
56.EXPERIENTA LUI ARISTOTEL..... 151
57.SENSIBILITATEA TERMICA
A.Termoesteziometria..... 151
B.Zona termică fiziologică zero şi modificările ei 153

58.RECEPTIA DUREROASA..... 153
59.DETERMINAREA PRAGULUI SENSIBILITATII GUSTATIVE..... 154
60.HARTA CIMPURILOR GUSTATIVE DE PE LIMBA..... 155
61.DETERMINAREA PRAGULUI ABSOLUT SI DIFERENTIAL AL ANALIZATORULUI MOTOR SAU CHINESTEZIC..... 155

ANALIZATORUL ACUSTIC

62.ROLUL PAVILIONULUI URECHII..... 158
63.TRANSMITEREA SUNETELOR PRIN OASELE CUTIEI CRANIENE..... 159
64.EXTIRPAREA APARATULUI VESTIBULAR LA BROASCA..... 160

ANALIZATORUL OPTIC

65.EXCITAREA MECANICA A OCHIULUI..... 162
66.ACTIUNEA UNOR SUBSTANTE ASUPRA IRISULUI..... 162
67.ACOMODAREA OCHIULUI.
A.Experienţa lui Scheiner..... 163
B.Imaginile lui Purkinje-Sanson..... 164
68.RETINA.
A.Demonstrarea petei oarbe.Experienţa lui Mariotte..... 166
B.Demonstrarea petei galbene.Experienţa lui Maxwell..... 166
C.Formarea imaginii pe retină 167
D.Rectificarea cerebrală a unei imagini retiniene..... 167
E.Observarea stratului vascular al retinei (figurile lui Purkinje)..... 167
F.Rodopsina..... 168
69.DETERMINAREA CIMPULUI VIZUAL..... 169
70.Reglarea activităţii analizatorilor..... 172
ANEXE..... 175
BIBLIOGRAFIE.....

BCU IASI

CAPITOLUL I.

1.TESUTUL OSOS.

Compozitia osului.Tesutul osos, eliberat de măduva grasă, se compune din substanţe organice (mai ales proteine), apă şi minerale.Constituentul proteic principal este oseina, însă există şi mici cantităţi de osteomucoide şi o substanţă albuminoidă.Apa reprezintă aproximativ 25% din greutatea osului, substanţele organice 30%, iar compuşii anorganici 45%.Substanţele minerale constau din Ca, P, Mg şi din mici cantităţi de K, Cl, F, Fe.In oase se găsesc şi citraţi.

Calciul realizează 20-25% din greutatea osului uscat.Există sub două forme principale:$CaCO_3$ şi fosfat tricalcic-$Ca_3(PO_4)_2$.Se găsesc de asemenea mici cantităţi de clorură de calciu şi fluorură de calciu.

Magneziul se găseşte mai ales sub formă de $Mg_3(PO_4)_2$.

Trebuie reamintit că osul adult nu este doar un material de construcţie inert, ci reprezintă un ţesut viu, a cărui compoziţie minerală prezintă fluctuaţii sub influenţa celorlalte funcţii ale organismului.

A.Demineralizarea osului.

Material necesar: o diafiză,pahar Berzelius de 1000ml,HCl 5%.

Principiul lucrării: substanţa minerală din os sub acţiunea HCl trece în soluţie sub formă de cloruri, rămînînd numai osul de oseină,elastic.

Tehnica:Se taie cu ajutorul unui ferăstrău o bucată de diafiză de aproximativ 4 cm, se curăţă bine de măduvă, se îndepărtează cartilagiile şi tendoanele, apoi se spală de cîteva ori cu alcool şi eter pentru degresare.Osul astfel pregătit se pune într-un pahar Berzelius,peste care se toarnă HCl pînă la acoperirea lui completă.Se lasă 24 ore, timp în care se schimbă soluţia de HCl de cel puţin 4 ori.Se obţine un corp gelatinos, aproape transparent şi moale, care păstrează forma şi volumul iniţial al diafizei.Este osul demineralizat, format numai din substanţă organică.

B.Hidroliza oseinei.

Material necesar: os de oseină,pahar Berzelius de 150 ml, HCl 5%.

Principiu:în prezenţa acizilor minerali diluaţi şi la cald,

oseina se hidrolizează în aminoacizi, pe care îi putem identifica prin reacţii specifice.

Tehnica: într-un pahar Berzelius se pun 30 ml HCl 5%, se adaugă o bucată de os demineralizat şi se fierbe timp de 1/2 oră. După răcire se fac următoarele reacţii pentru identificarea:

-glicocolului: se iau într-o eprubetă 3 ml din soluţia răcită, se adaugă 2 picături de $FeCl_3$ 2% şi se obţine o coloraţie roşie, care dispare prin adăugarea de HCl conc. şi reapare prin adăugare de amoniac.

-leucinei: se pun într-o eprubetă 3 ml din soluţia răcită, se adaugă sare de acetat de plumb pînă la saturare. Se formează un precipitat de leucinat de plumb.

-transformarea oseinei în gelatină. Într-un pahar Berzelius se pune o bucată de os de oseină, peste care se toarnă apă distilată. Se fierbe timp de 1 oră. Oseina se transformă în gelatină, care prin răcire dă o masă gelatinoasă transparentă.

C. Substanţa minerală a osului.

-calcinarea. Sub acţiunea temperaturilor înalte, are loc distrugerea substanţelor organice şi conservarea substanţelor minerale.

Tehnica: se ia o bucată de os curăţită şi se pune la incinerator. Osul se transformă într-o masă poroasă, alburie şi foarte sfărîmicioasă, care pisată în mojar dă făina de oase, formată din diferite săruri.

Evidenţierea calciului. În prezenţa HCl, sărurile de calciu trec sub forma de cloruri solubile.

Se ia într-o eprubetă un vîrf de cuţit de făină de os, peste care se adaugă 10 ml HCl 2%. Se agită pînă la solubilizare. Din soluţie se iau 2 ml într-o eprubetă şi se adaugă 2 ml H_2SO_4 15%. După 10-15 minute se formează un precipitat alb cristalin de SO_4Ca. O picătură din acest precipitat evaporată pe o lamă şi examinată la microscop, ne prezintă cristale aciculare sau prismatice de SO_4Ca.

-Din soluţia obţinută se iau 2 ml într-o eprubetă, se adaugă 2-3 picături de oxalat de amoniu 3%, din care se va forma un precipitat alb, cristalin de oxalat de calciu. O picătură din precipitat evaporată pe lamă şi observată la microscop, prezintă cristale octaedrice de oxalat de calciu.

Evidenţierea magneziului.Se iau 2 ml din soluţia de făi oase în HCl diluat, se adaugă cu grijă în exces carbonat de amoniu soluţie concentrată şi se fierbe.Se formează un precipitat abundent de CO_3Ca.Se filtrează.Peste filtratul limpede se adaugă în proporţie de 1:1 o soluţie concentrată de clorură de amoniu şi 2-3 cristale de fosfat trisodic şi apoi amoniac în exces.Se formează un precipitat alb de fosfat amoniaco-magnezian, care privit la microscop, după evaporarea pe o lamă, se prezintă ca nişte cristali sub formă de frunze de ferigă sau vîrf de săgeţi.

Evidenţierea fluorului.Se iau 4 ml din soluţia de făină de oase în HCl diluat, se adaugă cîteva picături de amoniac după care se încălzeşte uşor.Se formează un precipitat de fluorură de calciu.

Evidenţierea fosforului.Intr-o eprubetă se face o soluţie concentrată de făină de os în acid acetic 2%.Excesul de făină se filtrează.Se ia un volum din soluţia filtrată(2 ml) peste care se adaugă 2-3 volume de acetat de uranil, soluţie concentrată. Se formează după o încălzire uşoară, un precipitat floconos de culoare galbenă de fosfat de uranil, care este solubil în acizi minerali şi insolubil în acizi organici.

Recomandări: se va desena forma cristalelor observate.

Intrebări de control: Care este compoziţia chimică a osului? Ce rol îndeplinesc componentele chimice ale osului? Cine şi cum reglează metabolismul oaselor?

BCU IASI/CENTRU VECHI/LIBRARY

CAPITOLUL II

FIZIOLOGIA MUSCHILOR SI A NERVILOR

Mişcarea este una dintre manifestările esenţiale ale vieţii, iar muşchiul reprezintă ţesutul, care la animale poate să se contracte şi să se relaxeze, să efectueze o mişcare şi prin aceasta, travaliu.

Muşchiul striat este un organ periferic efector, care lucrează în organism numai sub comandă nervoasă. Deci activitatea musculară trebuie privită într-o strînsă legătură cu comanda şi reglarea nervoasă. Muşchiul împreună cu nervul motor care-l inervează şi cu motoneuronii, care dau naştere fibrelor nervoase motorii ce inervează muşchiul respectiv, formează un tot unitar, toate elementele descrise mai sus funcţionînd strîns unite împreună în cadrul unor unităţi neuromusculare sau unităţi motorii. Unitatea motorie este constituită din neuronul motor împreună cu prelungirile sale şi din toate fibrele musculare, care sînt inervate de ramificaţiile terminale ale axonului motoneuronului respectiv.

Fibra musculară sau muşchiul în totalitate cît şi fibra nervoasă sau nervul întreg, se pot excita şi în urma acţiunii directe a excitanţilor. Cînd intensitatea excitantului este suficient de puternică, la nivelul nervului apare un proces de excitaţie iar muşchiul răspunde prin contracţie. Reflectarea caracteristicilor cantitative şi calitative ale procesului de excitaţie, din multitudinea fenomenelor fizice, chimice şi fizico-chimice ce-l însoţesc, se corelează cel mai bine cu potenţialele bioelectrice. In cazul muşchiului ca o manifestare exterioară a excitaţiei, alături de potenţialele bioelectrice, serveşte şi actul contracţiei. Contracţia musculară poate servi drept indicator fidel al stării funcţionale a nervului. De aceea studiul fiziologiei muşchilor şi a nervilor, se bazează pe cercetarea efectelor mecanice ale contracţiei şi a fenomenelor bioelectrice.

Mecanismele intime ale apariţiei şi propagării procesului de excitaţie, cît şi transmiterea lui la nivelul muşchiului, se studiază cu ajutorul tehnicii microelectrozilor pe celule nervoase şi musculare izolate.

Proprietăţile generale ale muşchilor şi nervilor, proprie-

tăţile sistemului neuromuscular cît şi legile generale ale apariţiei, propagării şi transmiterii excitaţiei, se studiază pe muşchiul sau nervul izolat, sau pe sistemul format din muşchiul izolat împreună cu nervul său motor-preparatul neuromuscular.

Studiul fiziologiei nervilor şi a muşchilor permite rezolvarea unor probleme teoretice şi practice legate de înţelegerea activităţii sistemului nervos central.Acest domeniu de fiziologie prezintă o importanţă deosebită în practica medicală, deoarece îmbolnăvirile şi leziunile traumatice ale aparatului locomotor sînt foarte răspîndite.

Lucrările tratate în acest capitol cuprind atît metode clasice cît şi cele moderne folosite în studiul fiziologiei muşchilor şi a nervilor.

2.COMPOZITIA MUSCHIULUI STRIAT.

Muşchiul este alcătuit din aproximativ 75% apă şi 25% substanţă uscată.Din substanţa uscată aproximativ 20% revin substanţelor proteice iar restul de 5% sînt glucide, lipide, fosfocreatină, anserină, carnosină şi substanţe anorganice.Proteinele se prezintă sub formă de proteine libere(30%)(albumina, globulina,mioglobina, enzime) şi proteine de structură(aproximativ 70%) din care proteinele stromei cuprind 20% iar restul de 50% revin proteinelor contractile (miozina, actina, actomiozina, tropomiozina).

A.Determinarea cantităţii de apă din muşchi.

Material necesar: fiole de cîntărire;etuvă;balanţă analitică; exicator cu H_2SO_4; trusă de disecţie;broască.

Principiu:prin uscare pînă la greutate constantă, muşchiul pierde toată apa.Cunoscînd greutatea muşchiului proaspăt şi a celui uscat, se poate afla prin diferenţă cantitatea de apă.Rezultatul se exprimă la 100 g ţesut umed sau în kg apă pe kg greutate uscată, folosindu-se următoarea formulă:

$$\frac{\text{kg apă totală}}{\text{kg ţesut uscat}} \cdot \frac{\text{mg ţesut umed}}{\text{mg ţesut uscat}} - 1.$$

Tehnica:se disecă muşchiul sartorius de broască, se îndepărtează tendoanele şi se introduce în fiola de cîntărire cu greutate cunoscută.Se cîntăreşte fiola împreună cu muşchiul,du-

pă care se introduce pentru dezhidratare într-o etuvă termostatată la 110°C pentru 4-5 ore.După aceasta se răcesc fiolele într-un exicator cu H_2SO_4 timp de 30 minute, după care se cîntăresc.

Recomandări:se vor înregistra valorile obţinute şi se va calcula procentul de apă totală din muşchi.

B.Electroliţii tisulari.

Descriem mai jos cîteva metode folosite pentru determinarea unor cationi şi anioni din muşchi.

1. Material necesar: flamfotometru,eprubete de centrifugă Pyrex, baie de apă,HNO_3 conc.,pipete, apă bidistilată.

Tehnica:se cîntăresc 5 muşchi sartorius de broască şi se introduc în eprubete Pyrex peste care se adaugă 0,2 ml HNO_3 concentrat.Se fierb eprubetele la baie de apă timp de 15 minute.In felul acesta ţesutul este carbonizat.Se diluează cu apă bidistilată conţinutul tubului pînă la volumul necesar(obişnuit 50mg ţesut se dizolvă într-un volum de 15 ml). In extractul limpede se determină Na^+ şi K^+ prin metoda flamfotometrică, iar valorile obţinute sînt exprimate în procente sau miliechivalenţi(mEq)/ Kg ţesut uscat(vezi determinarea ionilor din sînge).

2.Cationii din ţesuturi umede pot fi extraşi cu acid diluat (0,2N HNO_3 sau H_2SO_4) în cel puţin 24 ore.

3.Cationii pot fi determinaţi prin incinerarea ţesuturilor uscate sau umede într-un creuzet de Pt la 650°C peste noapte. Cenuşa este dizolvată în un ml HNO_3 N, extractul se diluează şi se determină flamfotometric Na,K, Ca, Mg.

4.Intr-o eprubetă Pyrex se mojarează ţesutul uscat cu un piston de sticlă.Se adaugă 4 ml apă bidistilată şi suspensia este plasată pentru 15 minute într-o baie de apă care fierbe.După răcire se adaugă 2N H_2SO_4 pînă la o concentraţie finală de 0,2N. Se diluează extractul cît este necesar.Extragerea electroliţilor este completă după 24 ore.In extractul limpede Na şi K se determină flamfotometric iar Cl^- printr-o titrare cu NO_3Ag. Folosind această metodă putem determina din aceeaşi mostră tisulară atît apa cît şi electroliţii.

Recomandări:Se vor nota valorile obţinute pentru fiecare ion în parte şi se vor compara cu valorile normale.

C.Separarea miozinei.

Miozina, o proteină fibrilară de tipul alfa keratinei, cu greutate moleculară de 420.000, este solubilă în soluţii saline diluate şi insolubilă în apă distilată sau soluţii saline concentrate.

Material necesar:muşchi de vacă, mojar de mărime mijlocie, sticlă pisată,pahare Berzelius de 500 ml, pîlnie, hîrtie de filtru, baghetă de sticlă, NaCl 10%, Nacl sol. saturată, acid acetic 5%, NaCl cristale.

Tehnica:se iau 50-60 g muşchi într-un mojar, se taie mărunt cu foarfeca apoi se triturează bine cu 2 linguriţe de sticlă pisată pînă se obţine o pastă fină.Peste aceasta se adaugă 400 ml apă de robinet şi se agită împreună 30 minute.Apa extrage din muşchi pigmentul respirator şi o parte din săruri.Se filtrează amestecul prin tifon, care se stoarce bine.Filtratul se aruncă.

Pasta de pe filtru se pune într-un vas Berzelius mare şi se adaugă peste ea 200 ml NaCl 10%.Se agită timp de 30 minute pentru ca miozina să treacă în soluţie.Se filtrează amestecul prin tifon; se refiltrează filtratul prin hîrtie de filtru.In soluţia obţinută se găseşte solvită miozina.

Pentru identificarea miozinei se fac următoarele reacţii:

-Intr-un pahar Berzelius mare se pun 10 ml filtrat, peste care se adaugă 200 ml apă distilată.După 5 minute apare un precipitat alburiu floconos de miozină.Dacă adăugăm peste aceasta 15 ml soluţie saturată de NaCl, precipitatul se redizolvă.

-Intr-o eprubetă se iau 10 ml filtrat, peste care se adaugă cristale de NaCl.Se formează o soluţie saturată de NaCl, care precipită miozina.Dacă diluăm soluţia, prin adăugare de apă, precipitatul se redizolvă.

-Intr-o eprubetă se pun 10 ml filtrat şi se adaugă cîteva picături de acid acetic diluat.Se formează un precipitat alburiu de miozină.

D.Evidenţierea mioglobinei.

Mioglobina este pigmentul muscular, care în privinţa funcţiei seamănă cu hemoglobina.Are o greutate moleculară de 17.000 şi un conţinut de Fe de 0,32%.Acţionează ca un rezervor de oxigen în interiorul muşchiului, avînd o capacitate de fixare a oxigenu-

lui mai mare decît hemoglobina şi în plus viteza de asociere şi disociere este mult mai mare decît a hemoglobinei.

Principiul lucrării: după îndepărtarea hemoglobinei, mioglobina se solvă în apă distilată şi se identifică la spectroscop.

Material necesar: muşchi de vacă, sticlă pisată, tifon, hîrtie de filtru, pîlnie, baghetă de sticlă, spectroscop, NaCl 0,9%.

Tehnica: se pun 50 g muşchi într-un mojar şi se triturează mărunt cu foarfeca, apoi se toarnă 50 ml soluţie NaCl şi se amestecă bine cu o baghetă. Prin această operaţie hemoglobina sîngelui din muşchi trece în soluţie. Se filtrează prin tifon şi se aruncă filtratul. Pulpa musculară de pe tifon se stoarce bine apoi se triturează în mojar cu sticlă pisată pînă se obţine o pastă. Peste aceasta se toarnă 100 ml apă distilată în care trece mioglobina. Se filtrează prin tifon. Se refiltrează filtratul 1-2 ori prin hîrtie de filtru.

Se pune o cantitate de filtrat în cuva spectroscopului, pe care o aşezăm în faţa fantei spectroscopului. Prezintă patru benzi de absorbţie: în roşu, două benzi în zona galben şi verde şi una spre albastru; cele cuprinse între liniile D şi E sînt mai vizibile.

Recomandări: se va desena spectrul de absorbţie al mioglobinei.

B. Glicogenul muscular.

Glicogenul constituie forma de bază sub care se depozitează glucidele la nivelul ţesuturilor. Deşi procentul de glicogen din muşchi (0,4-0,6%) este mult mai redus comparativ cu ficatul (2-8%), cantitatea totală de glicogen este mare avînd în vedere masa musculară totală (30-40% din greutatea corpului).

Descriem mai jos metoda Good, Kramer, Somogyi pentru dozarea glicogenului.

Principiu: ţesutul este supus desmolizei sub acţiunea KOH 30%; prin adăugarea alcoolului la desmolizat are loc precipitarea glicogenului, care sub acţiunea acizilor este hidrolizat pînă la glucoză.

Reactivi: KOH 30%; KOH 60%; alcool etilic 70%, 80% şi 96%; HCl sau H_2SO_4 2N; NaOH 5N şi 0,5N; indicator (roş fenol sau turnesol).

Tehnica: într-o eprubetă care conţine 1 ml KOH 30% fierbinte,

se introduc 0,2-0,3 g de ţesut muscular, peste care se adaugă KOH 60% într-un volum corespunzător ţesutului(1g ţesut=1 ml). Eprubeta se acoperă cu un dop de sticlă şi se pune la fierbere în baie de apă pentru 45-60 minute, după care se răceşte.Se prelucrează amestecul cu 1,2 volume de alcool etilic 96%, se amestecă atent şi se lasă peste noapte la frigider.Precipitatul se separă prin centrifugare şi se curăţă prin spălări succesive cu alcool de concentraţie crescîndă:70%(10 ml);80%(5 ml);96%(5 ml). Prima centrifugare durează 20 minute, iar cele ulterioare-cîte 15 minute.Indepărtarea urmelor de centrifugat se face prin răsturnarea eprubetei peste o hîrtie de filtru.Precipitatul se usucă la baie de apă la temperatura de 70-75°C.Precipitatul uscat se supune hidrolizei cu acizi 1 N.Pentru aceasta se dizolvă glicogenul în 2-3 ml apă fierbinte la care se adaugă 2-3 ml HCl 2N.Se amestecă cu atenţie, se acoperă eprubetele cu dop de sticlă şi se pune la baie la fierbere pentru 2,5 ore.In acest interval de timp glicogenul hidrolizează pînă la glucoză.Se neutralizează hidrolizatul cu NaOH 5N şi apoi 0,5N în prezenţa indicatorului.In hidrolizatul neutralizat se determină glucoza.

Intrebări de control:Sub ce formă există apa în ţesuturi? Ce importanţă funcţională prezintă diferiţi constituenţi chimici ai ţesutului muscular?

3.PREPARATUL NEUROMUSCULAR SCIATIC-GASTROCNEMIAN.

Pentru demonstrarea proprietăţilor muşchilor şi a nervilor, se pot folosi preparatele neuromusculare, formate dintr-un muşchi şi nervul său motor.Obişnuit se utilizează preparatul neuromuscular sciatic-gastrocnemian de broască.Acest preparat poate fi detaşat complet din organism (in vitro) sau poate fi lăsat in situ, în care caz se păstrează irigarea lui normală.

Material necesar:soluţie fiziologică,trusă de disecţie, broască.

Mod de lucru: Preparatul neuromuscular in vitro:Pentru anatomia musculaturii membrelor posterioare de broască,vezi anexa. Se paralizează broasca.Se secţionează circular tegumentul la nivelul abdomenului şi se trage în jos ca o mănuşă (Fig 1 a);uneori este necesar de a secţiona tegumentul la nivelul anusului.

B.C.U. „M.EMINESCU" IAŞI BIOLOGIE

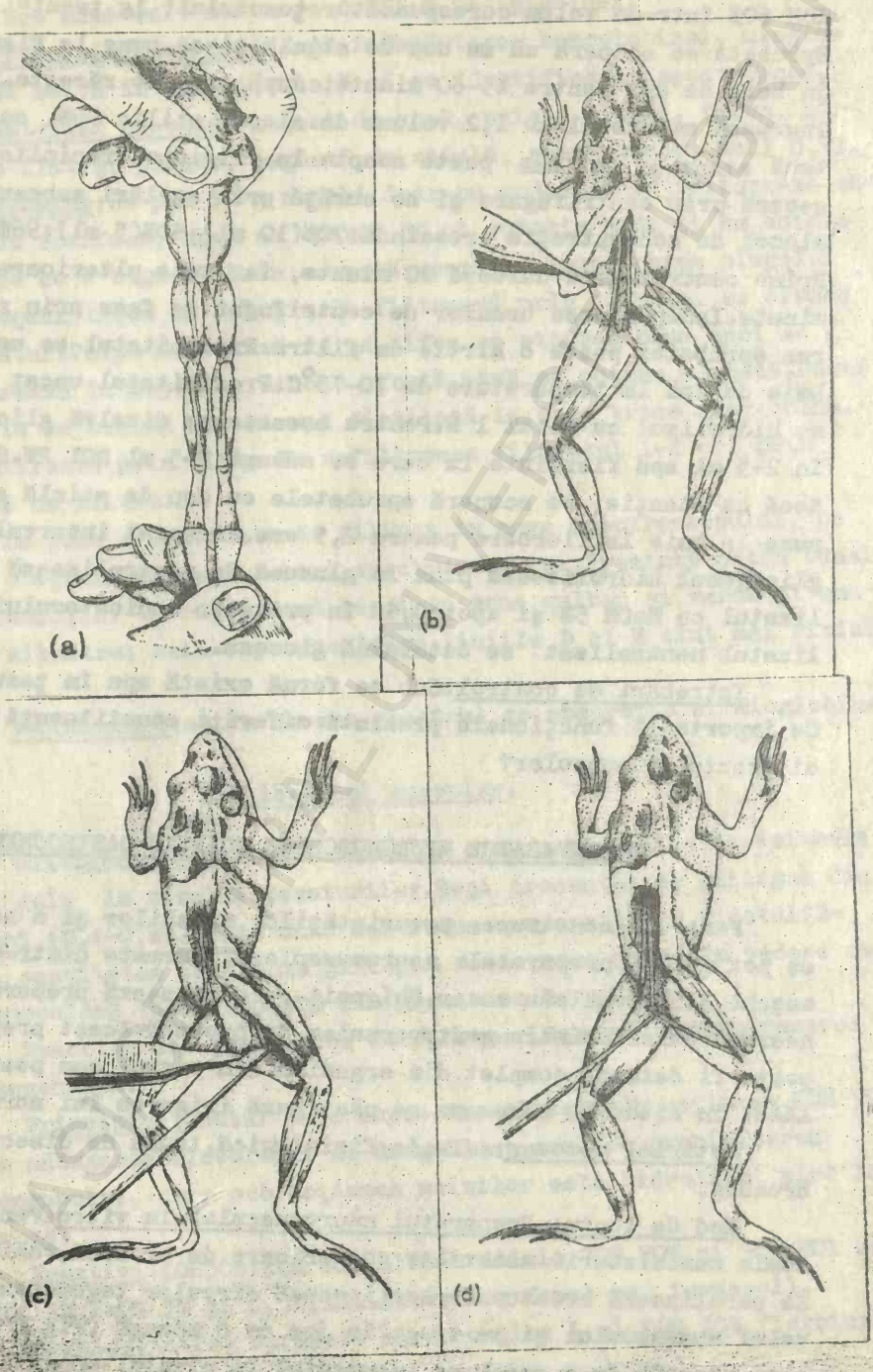
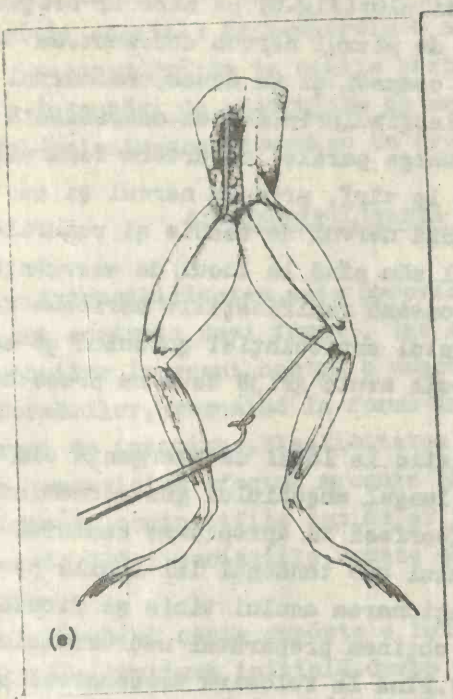
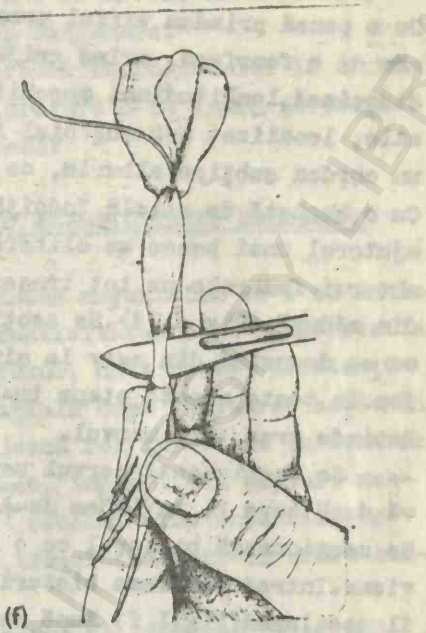


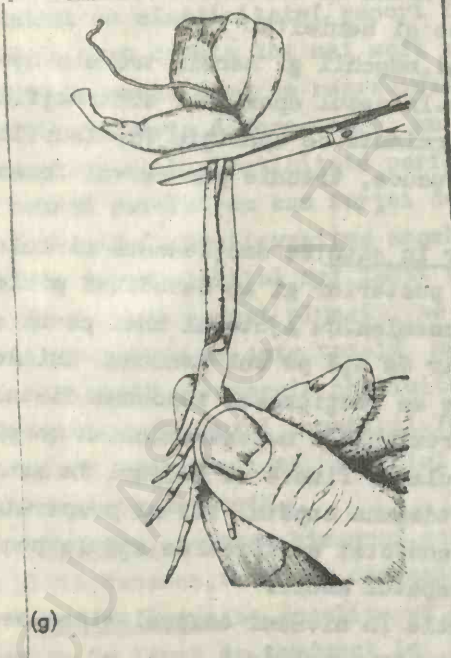
Fig.1. Etapele succesive ale pregătirii preparatului neuro-muscular sciatic-gastrocnemian in vitro



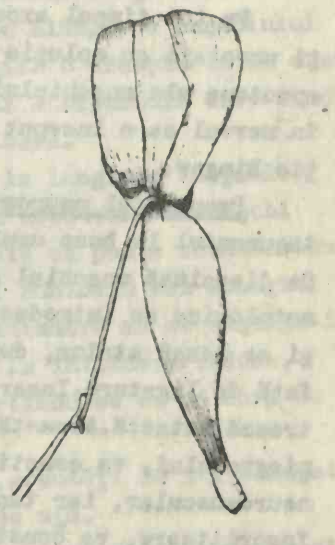
(e)



(f)



(g)



(h)

BCU IAS CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Cu o pensă prindem vîrful urostilului(Fig.b) pe care îl secţionăm cu o foarfecă, avînd grijă de plexul nervos dedesubt.Se disociază longitudinal muşchii coapsei şi se descoperă nervul sciatic, localizat sub muşchiul ileofibularis.Nervul se prezintă ca un cordon subţire alburiu, ce merge paralel cu artera femurală. Cu o baghetă de sticlă îndoită la vîrf, prindem nervul şi cu ajutorul unei pense se eliberează nervul de fascie şi ramurile arterei femurale pe tot traseul său pînă la locul de emergenţă din măduvă (Fig c, d).Se secţionează ramificaţiile nervoase fine ce se desprind din nerv la nivelul articulaţiei şoldului şi mai jos.In toate aceste etape trebuie avută grijă de a nu presa sau întinde prea tare nervul.

Se secţionează nervul sciatic la locul de emergenţă din măduvă după care îl întindem de-a lungul muşchiului gastrocnemian(g). Se secţionează piciorul cu o foarfecă în apropierea centurei pelviene.Introducem lama bisturiului sub tendonul lui Achile pe care îl secţionăm(Fig.1 f).După secţionarea osului tibia şi fibula sub articulaţia genunchiului, obţinem preparatul neuromuscular sciatic-gastrocnemian(Fig.1 h).Pînă la folosire se conservă preparatul în soluţie Ringer rece şi aerisită.

Pe tot timpul experienţei,muşchii şi nervii trebuie menţinuţi umectaţi cu soluţie Ringer.In cazul apariţiei contracţiilor spontane ale muşchiului, determinate de apariţia impulsurilor în nervul ce a început să se usuce, trebuie pus nervul în soluţie Ringer.

<u>Preparatul neuromuscular in situ</u>:se secţionează circular tegumentul la baza membrului posterior şi se denudează piciorul. Se disociază muşchiul gastrocnemian.Cu ajutorul unei pense stomatologice se introduce un fir de aţă pe sub tendonul lui Achile şi se leagă strîns, după care se secţionează tendonul distal faţă de ligatură.Inserţia proximală a m.gastrocnemian se păstrează intactă.Această articulaţie fixată cu bolduri în masa miografului, va constitui totdeauna capătul fix al preparatului neuromuscular, iar tendonul conectat cu firul de aţă la peniţa înscriitoare, va constitui capătul mobil.

Se izolează nervul sciatic la nivelul coapsei şi se secţionează cît mai aproape de regiunea cocşigiană.

Pe tot timpul experienţei nervul şi muşchiul trebuie menţinut umed.Preparatul neuromuscular de la broască îşi păstrează timp îndelungat viabilitatea fără a fi nevoie de a se asigura condiţii speciale de temperatură sau oxigenare.

Recomandări:Se va schiţa preparatul neuromuscular in situ.

Întrebări de control:De ce se preferă a se lucra pe preparatul sciatic-gastrocnemian de broască?

4.EXTENSIBILITATEA SI ELASTICITATEA MUSCULARA.

Extensibilitatea este proprietatea muşchiului de a se întinde sub acţiunea unei forţe , iar elasticitatea este proprietatea corpurilor,în cazul nostru a muşchiului, de a opune rezistenţă deformărilor, revenind la forma iniţială după încetarea acţiunii forţei de tracţiune.Elasticitatea joacă rol important în contracţie, amortizînd efectul mecanic brusc, împiedicînd rupturi musculare în contracţiile rapide şi în acelaşi timp economiseşte energie, căci variaţiile bruşte se transformă într-un efort continuu.

Muşchiul poate suporta o întindere de 150% sau chiar mai mult din lungimea iniţială.Curba de întindere prezintă iniţial un modul de elasticitate(raport între tensiune şi întindere) mai mic,care creşte tot mai mult pe măsură ce forţa deformatoare creşte.De aceea dacă se reprezintă grafic alungirea muşchiului funcţie de forţa deformatoare, nu se obţine o dreaptă ca în cazul corpurilor cu o elasticitate perfectă, ci o hiperbolă care tinde să meargă paralel cu axa forţei deformatoare.

Elasticitatea(revenirea muşchiului la lungimea iniţială) se face invers-iniţial mai încet şi apoi creşte.La un muşchi in vitro, care a fost alungit, se constată că peste anumite tensiuni revenirea nu este totală, muşchiul rămînînd mai alungit. Aceasta arată că energia cheltuită la extindere nu se cîştigă în întregime în momentul revenirii.In vivo la întinderi reduse, revenirea este completă, muşchiul comportîndu-se ca un corp cu elasticitate perfectă.

Material necesar:kimograf,scripete,greutăţi de 5 g,planşeta cu plută,broasca,trusă de disecţie,fir de aţă.

Mod de lucru:se paralizează broasca şi se descoperă m.gastrocnemian.Se leagă de tendonul lui Achile un fir lung de aţă,după

care se secţionează tendonul distal faţă de nod.Se trece firul de aţă pe după scripete(Fig.2), care este prevăzut cu peniţa înscriitoare şi se leagă de un taler pe care se vor aşeza greutăţi-le.Se imobilizează piciorul cu bolduri înfipte în os şi plută, ca să nu poată sălta preparatul sub acţiunea greutăţilor de pe platan.Se aranjează peniţa înscriitoare să vină în contact cu cilindrul kimografului sub un unghi de aproximativ 15°, după care se roteşte cilindrul cu mîna şi se înscrie linia de zero. Cu ajutorul unei pense se aşează o greutate pe platan(fără a produce şocuri) şi se observă alungirea muşchiului.Se roteşte cu mîna cilindrul(1 cm) şi se aşează o nouă greutate,identică cu prima-se produce o nouă alungire.După ce se pun 3-4 greutăţi, urmate de fiecare dată de o rotire a cilindrului, se procedează la ridicarea pe rînd a greutăţilor(tot cu ajutorul pensei), alternînd fiecare ridicare cu o rotire a cilindrului.Prin ridicarea succesivă, se observă modul de revenire a muşchiului la lungimea iniţială.După scoaterea ultimei greutăţi de pe platan,se constată că linia de înregistrare n-a revenit exact la punctul zero(linia de plecare).Ce semnifică acest fapt?.

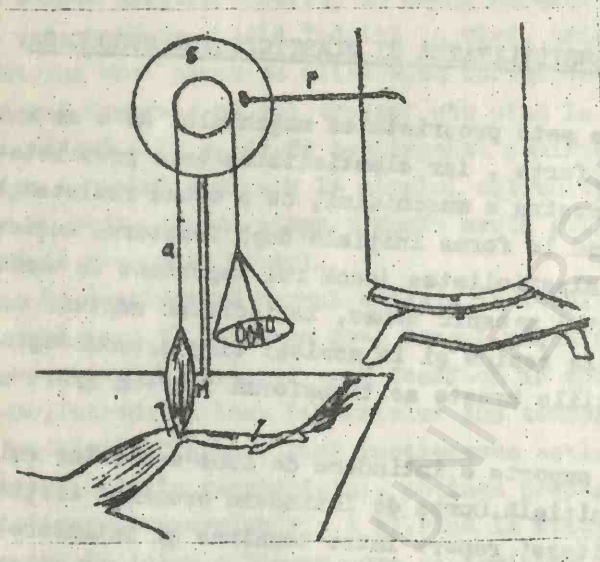


Fig.2.Aranjarea preparatului pentru înscrierea extensibilităţii şi elasticităţii musculare.

Fig.3.Graficul elasticităţii muşchiului gastrocnemian in vitro.

Recomandări: se va înregistra şi fixa graficul extensibilităţii şi elasticităţii m.gastrocnemian de broască.

Întrebări de control:Ce structuri ale muşchiului participă

în timpul întinderii şi revenirii muşchiului?De ce greutăţile, care se pun succesiv pe platan, trebuie să fie egale?Ce greutăţi se vor folosi în cazul unui muşchi mai gros?

5.ÎNREGISTRAREA ŞI ANALIZA SECUSEI MUSCULARE.

În condiţii obişnuite de activitate a organismului, muşchii scheletici se contractă sub formă tetanică sau tonică.Totuşi la baza contracţiilor tetanice se află posibilitatea muşchiului de a răspunde prin contracţii unice.Contracţia unică, elementară sau secusă, este contracţia muşchiului, provocată în condiţii experimentale prin excitarea muşchiului cu un singur stimul.Secusa este considerată forma elementară a răspunsului muscular.În organism, contracţii de tipul secusei, sînt unele reflexe proprioceptive.

Analiza secusei, înregistrată grafic concomitent cu înscrierea momentului aplicării excitantului şi a timpului, indică trei perioade principale ale secusei:latenţa, contracţia şi relaxarea.

Perioada latentă este perioada de timp foarte scurtă între momentul aplicării excitantului şi începutul contracţiei.La mamifere durează aproximativ 1ms şi este alcătuită din două faze: a) invadarea procesului de excitaţie în profunzimea fibrelor musculare, b) apariţia de modificări la nivelul aparatului contractil, care preced contracţia propriu-zisă şi care se exteriorizează prin relaxarea uşoară a muşchiului şi producerea de căldură. La începutul perioadei latente, ia naştere potenţialul de acţiune. Perioada latentă în afară de factori fiziologici, este determinată şi de inerţia sistemelor de înregistrare.La gastrocnemianul de broască perioada latentă durează aproximativ 0,01 secunde(înregistrată cu sisteme fără inerţie, perioada latentă la broască este de cel puţin patru ori mai mică).

Perioada latentă variază funcţie de starea funcţională a muşchiului.Toţi factorii, care favorizează procesele metabolice, cum ar fi temperatura în anumite limite, scurtează durata perioadei latente,în timp ce oboseala sau deshidratarea muşchiului, cresc durata perioadei latente.

Muşchii cu contracţii rapide, care sînt formaţi din fibre palide, au o perioadă latentă mai mică comparativ cu muşchii roşii, care se caracterizează prin contracţii lente.

Perioada de scurtare(contracţie) a muşchiului pe grafic

durează de la începutul liniei ascendente şi pînă la punctul maxim al deflexiunii.La mamifere durează 10ms în cazul muşchilor rapizi ai ochiului.La broască durează aproximativ 0,05 s(20-30 ms. folosind sistemele de înregistrare fără inerţie).

Perioada de revenire(decontracţia)de regulă durează mai mult decît perioada de scurtare(aproximativ 0,06 s).În felul acesta durata întregii secuse a gastrocnemianului de broască este de 0,11-0,12 s.Durata secusei este diferită la diferiţi muşchi din acelaşi organism sau la muşchii diferitelor animale.Ea se modifică şi funcţie de starea fiziologică a muşchiului cît şi de unele condiţii experimentale.

Echipament necesar:kimograf cu viteză mare;miograf Marey, sursă de curent; întrerupător;bobină de inducţie;semnal electromagnetic M.Deprez;diapazon electric cu frecvenţă de 100Hz;sîrmă de conexiuni;trusă de disecţie;soluţie Ringer;broască.

Mod de lucru:Se aranjează aparatele ca în Fig 4, montînd în circuitul primar un semnal electromagnetic, care va înregistra momentul aplicării excitantului.Ca excitant se utilizează un curent electric indus de bobina de inducţie.

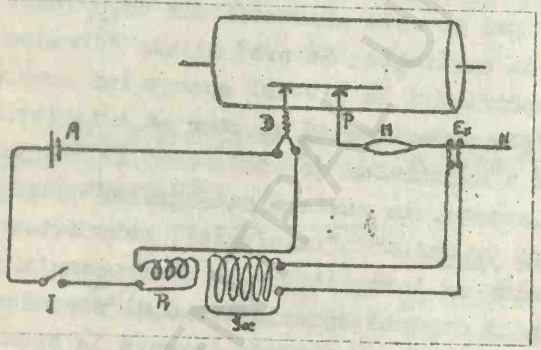


Fig.4.Schema de instalare a aparatelor pentru înregistrarea secusei. M=muşchi;N=nerv;P=peniţa miografului; D=semnal electromagnetic;bobina primară(Pr) şi secundară(Sec) a bobinei de inducţie;I=întrerupător electric; A=Acumulator.

Se pregăteşte preparatul neuromuscular sciatic-gastrocnemian.Cu un fir de aţă se face legătura între tendonul Ahile al muşchiului şi peniţa înscriitoare a miografului.Se aşează muşchiul pe pluta miografului, perpendicular pe peniţa înscriitoare, se întinde peniţa cu ajutorul preparatului, după care se imobilizează capătul proximal al muşchiului gastrocnemian cu ajutorul boldurilor înfipte în pluta miografului.Nervul sciatic se aranjează pe excitator.Pe tot timpul experienţei, se umectează preparatul cu soluţie fiziologică sau soluţie Ringer.

Prin apropierea bobinei secundare de bobina primară a bobine

de inducţie, se alege o intensitate de curent submaximală(amplitudinea contracţiei să fie suficient de mare).

Se aşează peniţa semnalului electromagnetic şi a miografului pe aceeaşi linie de plecare, care a fost trasată în prealabil pe cilindrul kimografului.Se porneşte cilindrul kimografului cu viteză mare(0,5-1 m/s) după care se închide circuitul electric. In felul acesta s-a aplicat un singur excitant, căci bobina secundară induce curent numai în momentul variaţiei cîmpului electromagnetic creat de bobina primară, adică în momentul închiderii sau întreruperii circuitului electric.Momentul aplicării excitantului, este indicat de devierea peniţei înscriitoare a semnalului electromagnetic, iar miograful înregistrează secusa musculară(Fig.5)

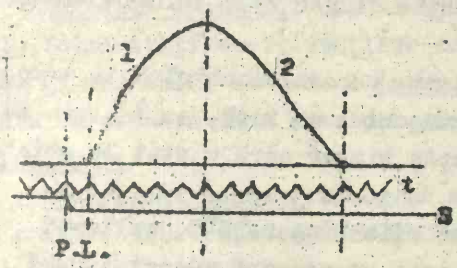


Fig.5.Secusa muşchiului gastrocnemian de broască.1=perioada de contracţie; 2=perioada de decontracţie;t=timpul la frecvenţa de 100 Hz;S=semnal electromagnetic.

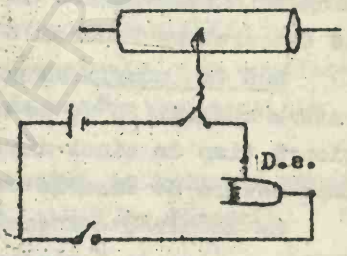


Fig.6.Schema pentru înregistrarea timpului.De.=diapazon electric.

Sub graficul obţinut se înregistrează timpul cu ajutorul diapazonului electric, care se montează în circuitul electric ca în Fig.6.Diapazonul funcţionează ca un întrerupător de curent cu o frecvenţă de 100 Hz.Intreruperile curentului sînt recepţionate de către semnalul electromagnetic, care trasează pe kimograf o serie de deflexiuni cu frecvenţa imprimată de diapazon.La înscrierea timpului viteza kimografului trebuie să fie aceeaşi ca şi la înregistrarea miogramei.

Recomandări:Se va delimita durata perioadei latente şi a secusei prin linii paralele între ele,trase la începutul deflexiunilor date de către semnal electromagnetic şi miograf şi după revenirea peniţei miografului la nivelul de plecare.Se va calcula durata perioadei latente şi a fazelor de contracţie şi de relaxare.Graficul obţinut se va ataşa în caietul de referate.

Intrebări de control:Care sînt condiţiile de obţinere a se-

cusei musculare?Ce putem spune despre starea funcţională a două preparate la care s-a obţinut o perioadă latentă cu o durată de 10 şi respectiv 14 ms?De ce în experienţa de mai sus trebuie să plecăm cu cele două peniţe înscriitoare de la acelaşi nivel?

6.ACTIUNEA TEMPERATURII ASUPRA SECUSEI.

Principiu: se compară fazele secusei musculare, obţinute la un muşchi care a stat la temperatura camerei (20°) cu un muşchi care în prealabil a fost răcit($0^{\circ}C$) sau încălzit($27^{\circ}C$).

Echipament necesar:acelaşi ca la secusa musculară;soluţie Ringer la temperatură de $0^{\circ}C$;soluţie Ringer 27°; soluţie Ringer la temperatura camerei.

Mod de lucru:După ce se înscrie secusa muşchiului la temperatura camerei(20°), se acoperă muşchiul cu vată, peste care se picură timp de cinci minute soluţie Ringer care a stat la ghiaţă. După răcire se înscrie secusa.

Se încălzeşte muşchiul cu soluţie Ringer $27^{\circ}C$, aplicată continuu timp de 5 minute peste vata ce acoperă muşchiul.După încălzire se înscrie secusa.Se înregistrează timpul sub fiecare contracţie obţinută.

Recomandări:se va compara durata perioadei latente, a fazei de contracţie şi relaxare a celor trei secuse musculare.

Intrebări:Muşchii omului se găsesc totdeauna la aceeaşi temperatură?Aţi avut ocazie să efectuaţi un lucru cu mîini puternic îngheţate? Avînd în vedere procesele biochimice care preced şi susţin contracţia, încercaţi să explicaţi rezultatele obţinute.

7.RELATIA DINTRE INTENSITATEA EXCITANTULUI SI AMPLITUDINEA CONTRACTIEI MUSCHIULUI.

Muşchiul cardiac reacţionează la excitanţi cu intensitate crescîndă conform legii tot sau nimic.Un mod de comportare identic are şi fibra musculară striată(Kato), adică excitantul limită(de prag) este şi maximal.In schimb muşchiul scheletic,în alcătuirea căruia intră o multitudine de fibre musculare, cu grade diferite de excitabilitate, se comportă în aceleaşi condiţii expe-

rimentale într-un mod diferit.La o anumită intensitate a excitantului se contractă grupul de fibre musculare, care posedă cea mai mare excitabilitate.Intensitatea minimă a excitantului, care determină contracţia de prag (contracţia minimă) a muşchiului,se numeşte intensitate de prag.Mărind treptat intensitatea excitantului, amplitudinea contracţiei creşte, ca urmare a intrării în activitate a unui număr tot mai mare de fibre musculare.In cele din urmă creşterea în continuare a intensităţii excitantului, nu determină şi o creştere a amplitudineicontracţiei musculare.După cum este uşor de dedus, aceasta va avea loc atunci cînd intensitatea excitantului va fi suficient de mare, pentru a determina intrarea în reacţie a tuturor fibrelor musculare.Sub acţiunea acestor excitanţi maximali, muşchiul răspunde prin contracţii maximale.Intensităţile excitanţilor situate între intensitatea de prag şi maximală, se numesc intensităţi submaximale, iar contracţiile corespunzătoare acestor excitanţi, se numesc contracţiile submaximale.

Echipament necesar:kimograf,miograf,bobină de inducţie,sursă de curent, întrerupător,fire de conexiuni, trusă de disecţie, soluţie fiziologică,broască.

Mod de lucru:Lucrarea se efectuează pe preparatul sciatic-gastrocnemian de broască.Modul de aranjare al aparatelor şi al preparatului, este identic cu lucrarea anterioară.

Inainte de a apropia peniţa miografului de kimograf, se alege orientativ intensitatea de prag a excitantului, prin modificarea distanţei dintre bobine.După aceasta se aşează peniţa miografului pe kimograful staţionar şi se înscrie contracţia de prag. Ea se obţine iniţial la întreruperea circuitului electric (Fig.7).

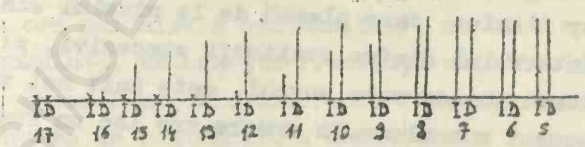


Fig.7.Gradaţia efectului mecanic al muşchiului funcţie de intensitatea excitantului. I=contracţii închidere;D=contracţii deschidere.Cifrele de jos indică distanţa dintre bobine în cm (După Pembrey).

Intensitatea de prag a excitantului se notează în cm distanţă dintre bobine.Deplasăm manual cilindrul kimografului cu 0,5 cm; mărim intensitatea excitantului, prin apropierea bobinei secun-

dare şi închidem circuitul electric.La întreruperea circuitului vom obţine o contracţie submaximală.Sub contracţia respectivă, se notează intensitatea excitantului submaximal în cm.Se măreşte treptat intensitatea excitantului (apropiind de fiecare dată bobinele cu aproximativ 1 cm) pentru a obţine un răspuns gradat al muşchiului pînă la cîteva contracţii maximale.După fiecare înregistrare, deplasăm manual kimograful cu 0,5 cm.Fiecare excitant următor, va fi aplicat după un interval de aproximativ un minut, pentru a da posibilitate muşchiului să se refacă şi a evita posibilitatea sumării temporare a excitanţilor.

La o anumită distanţă dintre bobine, încep să apară contracţii ale muşchiului şi la închiderea circuitului.Aceasta demonstrează că intensitatea excitantului la întreruperea circuitului, este mai mare comparativ cu intensitatea care se obţine la închidere.Contracţiile obţinute la închiderea circuitului se numesc contracţii prag,submaximale şi respectiv maximale de închidere, iar cele obţinute la întreruperea circuitului-contracţii prag,et deschidere.

Recomandări:Pe graficele obţinute se vor specifica felurile contracţiilor.

Intrebări de control:Ce relaţie există între excitabilitatea ţesuturilor şi valoarea intensităţii de prag? Cum explicaţi răspunsul gradat al muşchiului striat funcţie de intensitatea excitantului?

8.CONTRACTILE TETANICE.

Contracţia muşchilor în organism, are loc sub influenţa impulsurilor ritmice, care pleacă de la nivelul sistemului nervos central.Intervalul dintre excitanţi succesivi, plecaţi de la nivelul motoneuronilor spre muşchi, este mult mai mic comparativ c durata secusei musculare.Ca urmare are loc un fenomen de sumare a contracţiilor la nivelul muşchiului, care se exteriorizează printr-o contracţie puternică şi de lungă durată, denumită contracţie tetanică.In condiţii experimentale putem obţine pe muşc izolat, orice formă de contracţie şi putem analiza condiţiile d instalare a tetanosului.Dacă excităm muşchiul cu impulsuri ritm ce (fiecare impuls fiind apt de a provoca o secusă musculară),

atunci caracterul răspunsului muscular va depinde de frecvenţa excitanţilor.Dacă intervalul dintre doi excitanţi succesivi, va fi mai mare decît durata secusei (frecvenţa excitanţilor de 5-6Hz), muşchiul va răspunde prin contracţii unice.Dacă intervalul dintre excitanţi succesivi este mai mic decît durata secusei, dar mai mare decît durata perioadei latente şi a fazei de contracţie (frecvenţa excitanţilor aproximativ 10-12 Hz), cu alte cuvinte cînd fiecare excitant următor cade în perioada de decontracţie a muşchiului, atunci obţinem contracţii incomplet fuzionate alcătuind un tetanos incomplet sau zimţat(Fig 8,2).Dacă intervalul dintre excitanţi devine mai mic decît durata perioadei latente şi a perioadei de scurtare, dar mai mare decît durata durata fazei refractare absolute(frecvenţa excitanţilor 25-40 Hz), atunci obţinem contracţii prelungite, complet fuzionate, alcătuind ceea ce se numeşte tetanos complet sau neted(Fig.8,3).

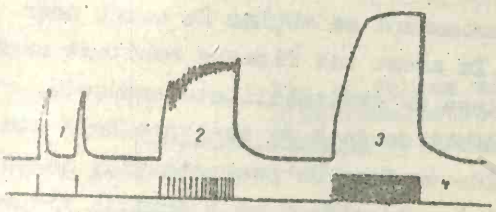


Fig.8.Modul de răspuns al muşchiului funcţie de frecvenţa excitanţilor(4).1-secuse; 2-tetanos incomplet;3-tetanos complet.

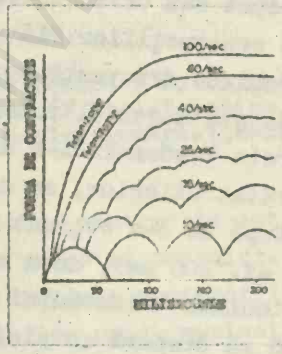


Fig.9.Explicarea caracteristicilor contracţiilor musculare funcţie de frecvenţa excitanţilor.

Frecvenţa cea mai mică a excitanţilor, la care apare contracţia tetanică completă, se numeşte frecvenţa critică.Coborîrea temperaturii, oboseala muşchiului, reduc frecvenţa critică, prin prelungirea duratei de contracţie a muşchiului.

Posibilitatea apariţiei contracţiilor tetanice la musculatura striată, este determinată de durata redusă a fazei refractare absolute şi relative.

Contracţiile tetanice se deosebesc de secuse musculare prin aceea că la aceeaşi stare funcţională a muşchiului şi la aceeaşi

intensitate a excitantului, amplitudinea contracţiei este mai mare.Fenomenul se datoreşte însumării efectelor mecanice.Modul cum are loc sumarea contracţiilor,prin excitări cu frecvenţă diferită, prin care se obţine în paralel şi o creştere a forţei de contracţie, este indicat în Fig.9.Durata secusei musculare, indicată în colţul din stînga, este de aproximativ 60 ms.

Contracţiile tetanice se caracterizează printr-o sumare numai a efectelor mecanice nu şi a celor bioelectrice.Dacă se înregistrează concomitent efectul mecanic, frecvenţa excitanţilor şi fenomenele bioelectrice, se constată că fiecărui excitant aplicat îi corespunde un potenţial de acţiune separat, atîta timp cît frecvenţa excitanţilor nu depăşeşte labilitatea funcţională a preparatului(determinată de durata fazei refractare absolute).

Curba tetanică obţinută poate prezenta un platou ascendent, descendent sau orizontal.Platoul orizontal ne indică o uniformitate a contracţiilor.Platoul ascendent se obţine în cazul unor excitanţi cu frecvenţă optimă.In acest caz fiecare excitant următor găseşte muşchiul într-o stare de excitabilitate crescută, stare căreia Vvedenski i-a dat numele de <u>fază de exaltare</u>.După cum s-a arătat ulterior, ea coincide cu faza de postpotenţial negativ.

După ce s-a obţinut un platou ascendent,cu o anumită frecvenţă(de ex. 100 Hz), dacă mărim şi mai mult frecvenţa excitanţilor, amplitudinea tetanosului scade progresiv -platou descendent- putînd să dispară complet.Aceste frecevenţe se numesc frecvenţe pessimale(Vvedenski).In cazul pessimumului de excitaţie, fiecare excitant următor găseşte muşchiul într-o stare de excitabilitate scăzută-perioada refractară relativă sau absolută.Un platou descendent se obţine şi prin obosirea muşchiului.

<u>Echipament necesar</u>:Kimograf,semnal electromagnetic,miograf, bobină de inducţie,excitator,întrerupător,sursă de curent,fire de conexiuni,trusă de disecţie,soluţie fiziologică,broasca.

<u>Mod de lucru</u>:Aranjarea aparatelor se face în acelaşi mod ca pentru înregistrarea unei secuse musculare(vz. lucrarea 5).Semnalul electromagnetic va marca frecvenţa excitanţilor.

Se lucrează pe preparatul sciatic-gastrocnemian de broască, excitarea muşchiului făcîndu-se în mod indirect-prin intermediul nervului sciatic.Se alege o intensitate a excitantului, care să dea contracţii maximale numai la întreruperea circuitului;inten-

sitatea de închidere să fie sub prag.Viteza kimografului -rec[illegible] (4mm/s).Se înscriu iniţial 2-3 contracţii unice şi apoi contracţiile tetanice.Pentru contracţii unice şi tetanice incomplete, excitanţii se aplică manual cu o frecvenţă de 5-6 Hz şi respectiv 10-12 Hz.Pentru obţinerea tetanosului complet, se pune în funcţiune întrerupătorul electromagnetic Wagner din circuitul primar al bobinei de inducţie, deblocînd lama vibratilă (F Fig.10). Pentru contracţiile tetanice se va aplica excitantul timp de aproximativ 5 secunde.După obţinerea contracţiei tetanice complete cu o anumită formă de platou, modificaţi frecvenţa excitaţiei, apropiind şurubul (b,Fig.10) de lama vibratilă.Explicaţi forma de platou obţinută.

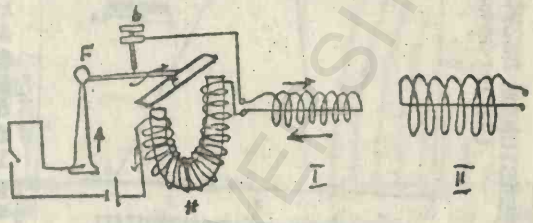


Fig.10.Schema de funcţionare a întrerupătorului electromagnetic Wagner (F,b,e).I-bobina primară; II-bobina secundară;H-electromagnet;e-lama vibratilă.

Recomandări:De numerotat formele de contracţie obţinute.De comparat amplitudinile contracţiilor unice şi tetanice.

Intrebări de control:De ce amplitudinea contracţiilor tetanice depăşeşte amplitudinea contracţiilor unice maximale?Dacă în faza de platou a contracţiilor tetanice, mărim şi mai mult frecvenţa excitanţilor, se observă o mărire a amplitudinii contracţiei?

9.RELATIA INTRE FORTA DE CONTRACTIE A MUSCHIULUI SI LUNGIMEA LUI INITIALA.

Forţa de contracţie a unui muşchi depinde de gradul de întindere pasivă a muşchiului înainte de contracţie.Dacă reprezentăm pe abscisă, lungimea iniţială(în cm) a muşchiului, iar pe ordonată-tensiunea dezvoltată în muşchi, se obţine un grafic din care rezultă că forţa realizată de muşchi, creşte odată cu întinderea muşchiului pînă la o valoare maximă, după care scade.

Această comportare indică existenţa în muşchi a unor elemen-

te elastice aranjate în serie, a căror întindere- pînă la o valoare optimă-măreşte tensiunea dezvoltată de elementele contractile.Dacă întinderea optimă este depăşită, filamentele elastice de actină de la nivelul discului I a sarcomerului, sînt extrase în aşa măsură din discurile A, care conţin filamente de miozină, încît între actină şi miozină nu se mai realizează interacţiuni, iar forţa de contracţie devine nulă (Fig.11).

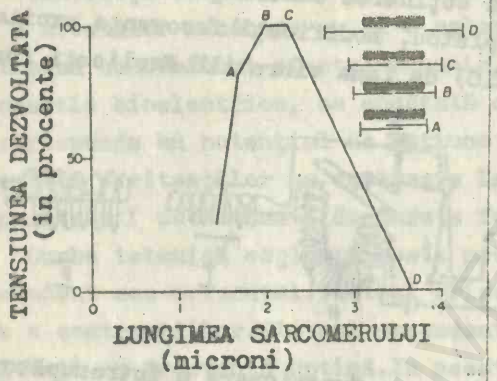


Fig.11.Relaţia între tensiunea şi lungimea sarcomerului,indicînd forţa maximă a contracţiei cînd lungimea sarcomerului este de 2-2,2 microni.În colţul din partea dreaptă este indicată poziţia filamentelor de actină şi miozină la diferite lungimi a sarcomerului din punctul A pînă la punctul B(După Gordon,Huxley şi Julian 1964).

Interrelaţia dintre lungimea iniţială a muşchiului şi forţa de contracţie se poate studia prin două procedee:1-se întinde treptat muşchiul şi se măsoară după fiecare întindere amplitudinea contracţiei maximale; 2-se păstrează lungimea constantă a muşchiului, dar se modifică treptat greutatea pîrghiei, pe care o ridică muşchiul, pînă cînd muşchiul în contracţie nu reuşeşte să ridice greutatea respectivă(efectul post-încărcării).În acest moment întindem muşchiul cu ajutorul greutăţilor atîrnate anterior, după care îl excităm,cînd se va observa scurtarea muşchiului.

Material necesar:miograf pentru contracţii izotonice;bobina de inducţie;sursă de curent;excitator;întrerupător;kimograf; trusă de disecţie;soluţie fiziologică;broască.

Mod de lucru: A.Influenţa lungimii iniţiale a muşchiului asupra mărimii contracţiei. Se lucrează pe preparatul izolat sciatic-gastrocnemian.Se prinde muşchiul în miograf, ca în Fig.1 Se deşurubează şurub L pentru a permite întinderea muşchiului sub influenţa greutăţilor, care se adaugă succesiv.Se excită indirect muşchiul cu un curent maximal.Pe kimograful staţionar se înregistrează contracţia maximală a unui muşchi în repaos, după care deplasăm manual kimograful cu 2-3 mm pentru o nouă înregis-

trare.Se alungeşte treptat muşchiul cu aproxima[illegible] 1 mm pri atîrnare de greutăţi, după care înregistrăm cîte o contracţie maximală pentru fiecare lungime iniţială imprimată muşchiului. Continuăm înregistrarea pînă cînd amplitudinea contracţiilor, iniţial în creştere, începe să scadă.

B.Efectul postîncărcării muşchiului asupra mărimii contracţiei.Se aranjează preparatul neuromuscular ca în Fig.12, gurubul L fiind ridicat, ceea ce face ca muşchiul să nu se poată întinde după adăugarea greutăţilor

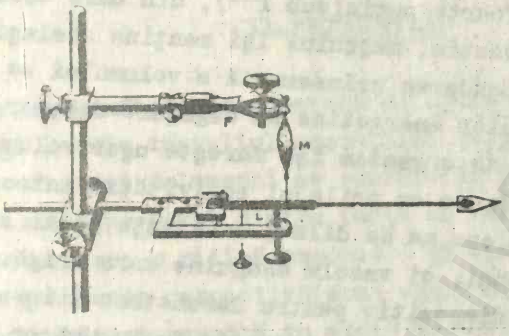


Fig.12.Miograf aranjat pentru observarea efectului postîncărcării muşchiului asupra contracţiei.

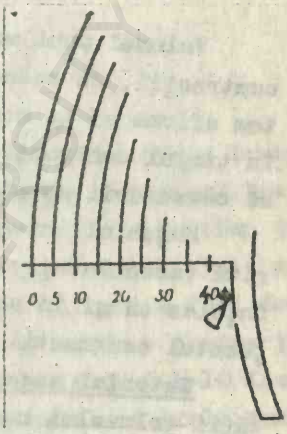


Fig.13.Influenţa încărcăturii şi a lungimii iniţiale a muşchiului asupra amplitudinii contracţiei.

Pe kimograful staţionar înregistrăm o contracţie maximală.Rotim manual kimograful cu 0,5cm, atîrnăm de pîrghie o greutate de 5 g şi înscriem contracţia.Continuăm să mărim treptat greutatea pîrghiei cu 5 g pînă la 40 g,înscriind după fiecare greutate amplitudinea contracţiei.La această greutate muşchiul aproape că nu se mai contractă.Greutăţile se aplică în acelaşi loc pe pîrghie. Observaţi viteza cu care muşchiul ridică pîrghia la fiecare greutate.Aceasta reprezintă relaţia între forţa şi viteza de contracţie.

Torsionăm din nou kimograful cu 0,5cm şi desfacem gurubul L pentru a întinde muşchiul.Torsionăm kimograful cu 0,5cm şi excităm muşchiul-muşchiul se va contracta şi va ridica greutatea.

Recomandări:sub fiecare contracţie se va indica mărimea greutăţii(vz.Fig.13).Calculaţi lucrul mecanic efectuat de muşchi la fiecare contracţie, cunoscînd că lucrul mecanic rezultă din

produsul dintre forţa contracţiei şi amplitudinea contracţiilor.

Intrebări de control:Cum explicaţi creşterea forţei de contracţie a muşchiului paralel cu întinderea lui iniţială?
Cum împăcaţi modul de comportare a muşchiului,observat mai sus, cu legea tot sau nimic?

10.Volumul muşchiului contractat.

Volumul unui muşchi izolat, în timpul diferitelor forme de contracţii, se reduce foarte puţin(sub 1%), din care cauză putem afirma că în mod practic, muşchiul îşi menţine acelaşi volum în timpul contracţiei.Scăderea neînsemnată a volumului se datoreză consumării substanţelor energetice cu degajare de energie.

Muşchiul integrat în organism îşi măreşte uşor volumul, datorită vasodilataţiei apărute cu prilejul activităţii intense.Bineînţeles că şi în acest caz nu se dilată substanţa contractilă sau ţesutul contractil însuşi, ci vasele sanguine care irigă muşchiul

Material necesar:dispozitiv pentru demonstrarea invariabilităţii volumului muscular;bobină de inducţie,întrerupător,fire de conexiune;acumulator;trusă de disecţie;broască.

Dispozitivul amintit este format dintr-un vas de sticlă, care se umple cu ser fiziologic.Dopul vasului are spre interior un cîrlig, de care se fixează articulaţia tibio-femurală a preparatului neuromuscular.Dopul este străbătut de un tub de sticlă care va indica eventualele fluctuaţii ale volumului de lichid şi de doi electrozi, care servesc ca excitator(Fig.14).

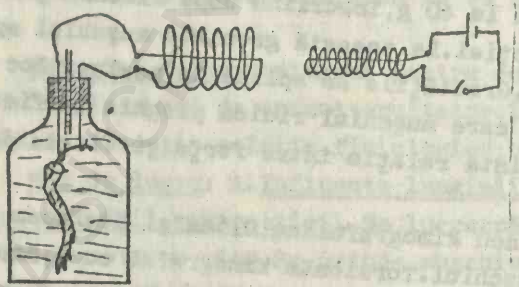


Fig.14.Aranjarea preparatului neuromuscular pentru demonstrarea volumului muscular în timpul contracţiei.

Mod de lucru:Se pregăteşte preparatul sciatic-gastrocnemian. Se fixează preparatul cu ajutorul cîrligului de dop,se trece nervul peste excitator.Se umple vasul cu soluţie fiziologică.Se

aplică depul cu grijă;muşchiul este astfel cufundat în ser.Prin aplicarea dopului serul urcă în capilar.Se notează nivelul lichidului din capilar, cînd muşchiul se află în repaos.Se excită muşchiul (vz. schema Fig.14) cu impulsuri unice sau curent tetanizant.Prin transparenţa vasului se observă scurtarea şi îngroşarea muşchiului fără modificarea evidentă a volumului căci coloana de lichid din capilar nu prezintă fluctuaţii.

Intrebări de control: Ce parametrii externi se modifică în timpul contracţiei unui muşchi in vitro?

11.ERGOGRAFIA.

Ergografia este o metodă cu ajutorul căreia se poate înregistra şi studia travaliul muşchiului în contracţie voluntară.Travaliul efectuat de muşchi se exprimă în Kgm pe unitate de timp şi reprezintă produsul dintre forţa de contracţie a muşchiului(greutatea pe care o ridică muşchiul) şi distanţa la care a fost deplasată greutatea respectivă(suma amplitudinilor tuturor contracţiilor).Un bărbat execută în medie un lucru mecanic de 6,5-10 Kgm/sec. iar lucrul mecanic global efectuat de om în cele mai grele munci fizice, nu depăşeşte 100.000-200.000Kgm/24 ore.

Capacitatea de muncă a muşchiului nu este o constantă ci depinde de mulţi factori, cum ar fi forţa şi ritmul de contracţie a muşchiului.Funcţie de gradul de dezvoltare al muşchiului, există o încărcătură şi un ritm optim de activitate.Ritmul de activitate depinde de experienţa individuală şi poate fi mărit prin antrenament.

Echipament necesar:ergograf;kimograf;metronom;greutăţi de 1,2,5 Kg;riglă gradată în cm.

Unul din cele mai răspîndite tipuri de ergografe este ergograful Mosso(Fig.15),adaptat pentru înregistrarea mişcărilor muşchilor flexori ai degetului median de la mînă. El constă dintr-un dispozitiv ce permite imobilizarea antebraţului şi a degetelor(doi şi patru) în vederea excluderii din activitate a muşchilor respectivi, cu excepţia muşchiului flexor al degetului median.Sistemul de înregistrare este reprezentat printr-un cursor ce glisează pe două bare transversale în limita cadrului.De cursor este prinsă peniţa înscriitoare.Prin cursor trece o sfoară, care

la un capăt are un inel de piele, ce se aplică pe degetul median la locul de articulare între falanga 2 şi 3, iar la capătul opus al sfoarei, care trece pe după un scripete, se leagă o greutate. Flexarea degetului median, ridică greutatea la o înălţime, care este indicată pe kimograf de către peniţa înscriitoare.Revenirea peniţei se face pasiv prin greutatea atîrnată.

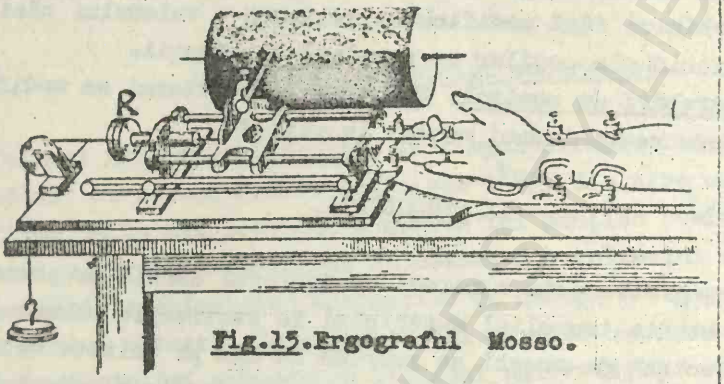


Fig.15.Ergograful Mosso.

Mod de lucru:se reglează cursorul cu ajutorul şurubului R şi a dispozitivelor de imobilizare a degetelor şi a antebraţului în aşa fel încît în repaus degetul să fie întins cu sfoara, fără să fie tras.Kimograful se aşează în poziţie orizontală şi la o viteză redusă de mişcare.

Se atîrnă o greutate de 2-3 Kg.Ridicarea greutăţii se face în ritmul imprimat de bătăile metronomului.Travaliul se execută pînă la obosirea completă a muşchiului.Graficul obţinut poartă denumirea de ergogramă. Travaliul (A) executat, exprimat în Kgm, se calculează după formula: A=P.H în care P=greutatea în Kg atîrnată;H=suma tuturor contracţiilor, calculată cu ajutorul riglei gradate.

A:influenţa încărcăturii asupra travaliului:în acest scop se păstrează frecvenţa constantă a contracţiilor(60 contracţii pe minut) şi se înregistrează ergograma pentru greutatea de 3 Kg şi 5kg.După fiecare ergogramă obţinută se lasă o pauză de 10 minute pentru refacerea muşchiului.

B:influenţa ritmului de contracţie asupra travaliului:păstrăm greutatea constantă(3 kg) şi înregistrăm prima ergogramă la un ritm de 60 contracţii pe minut, iar a doua-la 120 contracţii pe minut.

Recomandări: Graficele obţinute se ataşează în caietul de

referate.Se va calcula travaliul efectuat şi se vor compara rezultatele.Datele obţinute se trec în tabelul de mai jos.

Ritmul travaliului.	Mărimea greutăţii(Kg)	Suma înălţimilor contracţiilor(m).	Travaliul executat (Kgm)	Durata travaliului.

Intrebări de control: Care din asocierile de ritm şi greutate, indicate mai jos,determină la majoritatea oamenilor un travaliu maxim:1)-ritm 120/minut,greutatea 1kg; 2)-ritm 90,greutatea-9kg; 3)-ritm-60, greutatea 3kg; 4)-ritm 40 pe minut, greutatea 4kg?

12. OBOSEALA MUSCULARA .

Contracţiile repetate ale muşchilor produse prin excitarea ritmică intervale scurte de timp, determină fenomenul de oboseală.

In timpul oboselii are loc un tablou foarte complex de modificări în sistemul excitabil al muşchiului şi în desfăşurarea proceselor energetice, ce determină contracţia miofibrelor.

Odată cu instalarea oboselii scade excitabilitatea musculară cît şi viteza de răspîndire a procesului de excitaţie.In forma elementară de contracţie a muşchiului, se observă că paralel cu accentuarea fenomenului de oboseală, perioada latentă se alungeşte, amplitudinea contracţiei scade,iar durata contracţiei creşte. Creşterea duratei de contracţie se face atît prin alungirea fazei de contracţie a muşchiului dar mai ales a fazei de relaxare;gradul de relaxare scade treptat putînd să apară contractura.

In formele tetanice de contracţie, oboseala se manifestă sub forma scăderii treptate a amplitudinii contracţiei, pînă la dispariţia ei;tetanosul complet, în deosebi în cazul excitanţilor repetitivi slabi, devine zimţat.

Dacă se urmăreşte activitatea unui muşchi integrat în organism se constată că ordinea instalării oboselii este următoare:neuronul motor, apoi placa motorie şi, în fine, muşchiul.Nervul este practic infatigabil.

Refacerea potenţialului de muncă a unui muşchi obosit are loc în perioada de odihnă.Un mijloc mult mai eficace de luptă împotri-

va oboselii,constă în înlocuirea odihnei pasive prin odihnă activă , care constă într-o activitate moderată a altor grupe musculare.Acest fenomen se numeşte fenomenul lui Secenov şi se explică prin inervaţia reciprocă a muşchilor antagonişti (intrarea în activitate a unui grup de muşchi, determină inhibarea reciprocă a altor grupe musculare, care prezintă o inervaţie reciprocă.În perioada de inhibiţie se intensifică procesele de refacere a celulelor nervoase, care pregătesc celula pentru o nouă activitate).

Viteza cu care se instalează oboseala, depinde de intensitatea activităţii musculare şi de irigarea cu sînge a muşchiului.

1.Modificările secusei, sub acţiunea oboselei.

Material necesar:kimograf;miograf;semnal electromagnetic;bobină de inducţie;acumulator;roată dinţată întrerupătoare;diapazon electric cu frecvenţă de 100 HZ; excitator; metronom; trusă de disecţie; broască,întrerupător simplu cu mercur.

A.Suprapunerea contracţiilor.

Mod de lucru:se instalează aparatele ca în schema de mai jos.

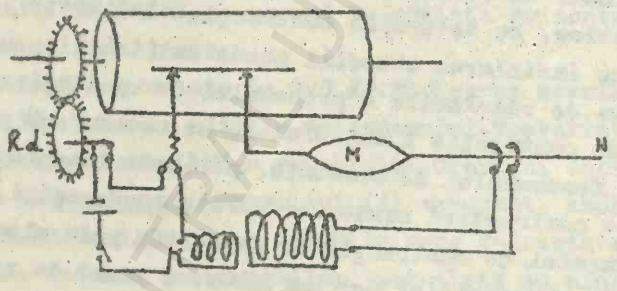


Fig.16.Schema de aranjare a aparatelor pentru înregistrarea oboselii musculare prin imbricarea contracţiilor.R.d.=roata dinţată.

Roata dinţată întrerupător se cuplează la roata dinţată de pe kimograf, care are acelaşi număr de dinţi.Scopul ei este de a închide succesiv circuitul electric, cînd peniţele înscriitoare ajung în acelaşi loc pe cilindrul kimografului.

Se prinde preparatul neuromuscular de peniţa miografului, se aranjează peniţa semnalului şi a miografului pe aceeaşi generatoare şi se porneşte kimograful cu viteză mare.Se închide circuitul electric şi se înscrie secusa musculară.Se depărtează peniţele

înscriitoare de pe kimograf şi se continuă excitarea muşchiului cu o frecvenţă de 2Hz (ritmul se stabileşte prin bătăile metronomului sau se leagă de acul metronomului, întrerupătorul cu mercur Fig.17)

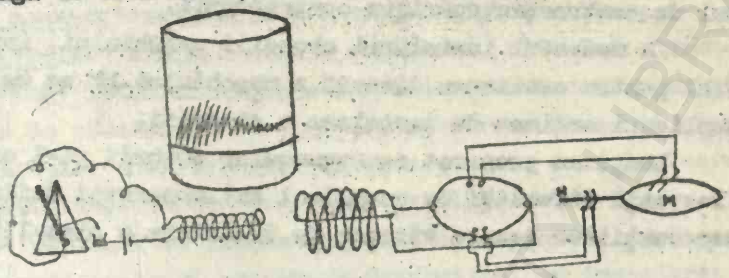


Fig.17.

După 50 de contracţii musculare, se apropie peniţele de kimograf se aranjează pe acelaşi traseu şi se înscrie secusa peste prima înregistrare(roata dinţată a rămas în aceeaşi poziţie).Depărtăm din nou peniţele de pe kimograf,excităm preparatul de 50 ori ca mai sus şi înscriem pe kimograf contracţia 101.

Se înscrie timpul cu ajutorul diapazonului.

Recomandări:pentru fiecare contracţie se va calcula perioada latentă,durata fazei de contracţie şi de relaxare.De observat apariţia contracturii.

B. Inscrierea continuă a contracţiilor.Localizarea oboselii. Influenţa frecvenţei contracţiilor asupra vitezei de instalare a oboselii.

Material necesar: acelaşi ca la punctul A şi în plus cheia Pohl.Cheia Pohl permite comutarea succesivă a curenţului la cele 2 perechi de borne laterale.O pereche se leagă de excitatorul aplicat pe nervul sciatic, iar cea de a doua pereche-la excitatorul de pe muşchi.

Se aranjează aparatele ca în Fig.17.Preparatul sciatic-gastrocnemian se leagă de peniţa miografului.Viteza kimografului-mică (aproximativ 2mm/sec).Se alege o intensitate a excitantului, care să dea o contracţie maximală la întreruperea circuitului, iar intensitatea de închidere să fie sub prag.După aranjarea peniţei miografului pe kimograf, se răsuceşte manual cilindrul kimografului, pentru a trasa linia de bază.Excităm preparatul ritmic cu o frecvenţă de 2 Hz.

Recomandări:Iniţial se excită muşchiul prin intermediul nervului.Odată cu dezvoltarea oboselii, observaţi scăderea treptată a

amplitudinii contracţiei pînă la dispariţie;mărirea duratei contracţiei;apariţia neconcordanţei între ritmul de excitare şi ritmul de contracţie;apariţia contracturii.

In momentul instalării oboselii muşchiului, inversaţi cheia Pohl pentru excitarea directă a muşchiului.El se va contracta. Explicaţi ordinea de instalare a oboselii.

Luaţi un preparat neuromuscular odihnit şi-l excitaţi cu o frecvenţă diferită(de exemplu 1 Hz).Observaţi influenţa frecvenţei contracţiilor asupra vitezei de instalare a oboselii.

2.Obosirea muşchiului prin contracţii tetanice.

Se instalează aparatele pentru înscrierea contracţiilor tetanice complete.Se leagă preparatul sciatic-gastrocnemian de peniţa miografului şi se alege intensitatea curentului, care provoacă contracţiile tetanice maximale.Se înregistrează linia de zero,ce caracterizează lungimea muşchiului neobosit.Se porneşte kimograful şi se înscrie o contracţie tetanică prelungită pînă la obosirea completă a preparatului.De observat scăderea treptată a amplitudinii şi apariţia zimţurilor.Se întrerupe excitarea preparatului şi se va observa lungimea muşchiului, care devine mai scurt ca urmare a instalării contracturii.

3.Localizarea oboselii în contracţii voluntare.

Echipament necesar:ergograf;generator de impulsuri(cronaximetru);metronom;kimograf.

Mod de lucru: se aranjează electrodul indiferent(vz.determinarea cronaxiei) pe braţ, iar cu electrodul explorator(catodul) se identifică punctul motor al muşchilor flexori ai degetului median, pe care-l marcăm cu cerneală.Mărim intensitatea impulsurilor pînă cînd obţinem contracţii maximale.Fixăm antebraţul în dispozitivul ergografului şi înscriem o ergogramă voluntară cu o frecvenţă de 100 contracţii pe minut;greutatea atîrnată de ergograf-3kg.In momentul dispariţiei contracţiilor voluntare, ca urmare a instalării oboselii, se aplică electrodul explorator în punctul motor aflat anterior şi se excită indirect muşchiul flexor al degetului median.Se va observa apariţia contracţiilor destul de puternice ceea ce demonstrează că oboseala n-a fost instalată în porţiunea periferică a aparatului motor(nerv,placa motorie sau muşchi

ci la nivel central(celulele sistemului nervos central).

4.Fenomenul Secenov.

Material necesar:ergograf;metronom;greutăţi de 1;2 kg.

Mod de lucru:se înregistrează o ergogramă, ridicînd o greutate optimă(2-3kg) la un ritm optim.De observat momentul apariţiei primelor semne de oboseală, întreaga desfăşurare a oboselii şi momentul dispariţiei contracţiilor voluntare.Se va calcula lucrul mecanic efectuat în perioada respectivă de timp.

Se lasă o perioadă de repaus suficientă(10 minute) după care repetăm înscrierea aceleaşi ergograme.Concomitent cu înscrierea ergogramei, subiectul efectuează o activitate ritmică cu mîna cealaltă.Se va observa că momentul apariţiei primelor semne de oboseală ca şi instalarea oboselii complete, vor fi mult prelungite. De ce?

Acelaşi fenomen se va demonstra şi în altă variantă experimental [illegible]ctul efectuează o ergogramă pînă la obosirea completă a degetului de la mîna dreaptă.In timpul repausului mîinii drepte, se efectuează cu mîna stîngă o activitate de aceeaşi durată.Se înregistrează din nou ergograma mîinii drepte după repaosul activ. Se vor compara curbele obţinute, care ne vor convinge că lucrul mecanic al mîinii drepte, efectuat după un travaliu al mîinii stîngi, este mult mai mare comparativ cu odihna pasivă de aceeaşi durată.

5.Efectul circulaţiei asupra oboselii.

Material necesar:ca la experimentul 1B;miograf dublu.

Mod de lucru:se descoperă nervii sciatici şi muşchii gastrocnemieni de la ambele membre posterioare.Legăm fiecare muşchi prin tendonul lui Achile la una din peniţele miografului.La un membru se secţionează vasele sanguine ale piciorului(ele merg paralel cu nervul sciatic).Inscriem concomitent contracţiile musculare succesive, ca în experimentul 1B.De observat viteza mai mare de instalare a oboselii la muşchiul neirigat;se va determina şi timpul necesar pentru refacerea fiecărui muşchi.

Efectul circulaţiei sanguine asupra instalării oboselii, poate fi studiat şi cu ajutorul ergografului, comparînd o ergogramă normală cu o ergogramă obţinută după comprimarea arterei brahiale cu ajutorul unei manşete a sfigmomanometrului.

Recomandări:Pe graficele obţinute se va specifica felul experienţei.

Intrebări:Care sînt cauzele apariţiei oboselii?Prin ce se exteriorizează oboseala şi care sînt mijloacele de luptă contra oboselii?Care este ordinea de instalare a oboselii în condiţiile organismului întreg?

13.CONTRACTIA MUŞCHILOR NETEZI.

In organismul animalelor superioare şi a omului, musculatura netedă alcătuieşte stratul median al pereţilor unor organe cavitare interne, intră în alcătuirea pereţilor vaselor, canalelor excretoare ale glandelor exocrine etc.Luînd parte la activităţile lente şi de lungă durată ale organelor interne, muşchii netezi prezintă proprietăţi diferite comparativ cu muşchii striaţi sau cardiaci.Una din particularităţile funcţionale de bază ale muşchilor netezi, constă în capacitatea lor de a intra în contracţii tonice de lungă durată fără un consum intens de ATP(de ex. muşchi sfincterelor), care pot avea de asemenea un caractar ritmic(ex. muşchii tubului digestiv).Contracţiile tonice şi ritmice pot fi simultane sau separate, aceste două procese nefiind condiţionate reciproc.Ritmicitatea este cauzată, cel puţin în parte, de prezenţa unor fibre netede în masa musculară, care sînt autoexcitabile: membranele lor sînt foarte permeabile pentru Na^+, ceea ce permite generarea spontană a potenţialelor de acţiune.

Excitabilitatea musculaturii netede este inferioară celei striate sau cardiace.Pragurile de excitare sînt mai mari, perioada latentă este mai mare (0,25-3 sec) iar perioada contracţiilor unice poate dura de la cîteva secunde pînă la 1-2 minute(Fig.18). Această ultimă diferenţă în comportarea muşchilor netezi, rezultă din încetinirea atît a procesului de activare cît şi de inactivare a procesului de contracţie,ceea ce este determinat de particularităţile structurale ale muşchilor netezi(nu prezintă sistemul tubular T şi un reticul sarcoplasmatic

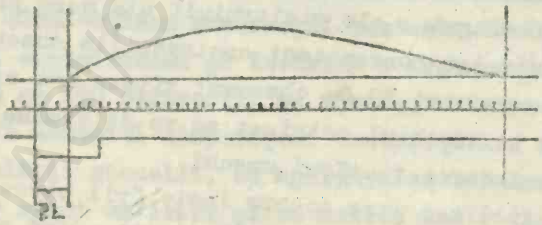


Fig.18.Miograma muşchiului neted.Timpul=1 sec.

intern bine dezvoltat necesar eliberării şi resorbţiei ra... a ionilor de Ca.Ionul de Ca necesar pentru activarea contracţiei trece din mediul extern,probabil, prin însăşi membrana celulei sau este eliberat în interiorul celulei din structuri care sînt sensibile direct potenţialului de acţiune).

Activitatea contractilă lentă a m. netede este îmbinată cu o forţă puternică şi capacitate de a se opune forţelor de tracţiune prin contracţii active sau mărirea tonusului.O particularitate caracteristică lor este şi aceea de a reacţiona nu numai la influenţe nervoase, ci şi la cele umorale; pentru unele substanţe chimice cu activitate biologică,posedă o mare sensibilitate,motiv pentru care se pot folosi la dozarea lor(metode biologice de dozare a unor mediatori sau hormoni etc).

Avînd o perioadă refractară lungă, pentru a obţine contracţii tetanice, este suficient un număr redus de excitanţi, aplicaţi la distanţe mari.

Descriem mai jos două procedee, folosite pentru studiul particularităţilor funcţionale ale muşchilor netezi.

1- Echipament necesar:kimograf; miograf;semnal electromagnetic; întrerupător; acumulator; trusă de disecţie; cronograf;soluţie fiziologică;stomac de broască.

Mod de lucru:Se aranjează aparatele ca în Fig.19.Avînd în vedere excitabilitatea redusă a muşchilor netezi, se va folosi o intensitate mai mare a curentului electric, care să acţioneze asupra ţesutului un timp relativ mai mare, motiv pentru care se preferă a se lua curent direct de la acumulator şi nu de la o bobină de inducţie (cît timp durează curentul indus în bobina secundară?).Un excitant prea puternic poate leza ţesutul.

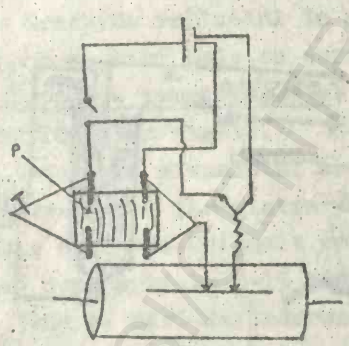


Fig.19.Aranjarea instalaţiei pentru înscrierea miogramei muşchilor netezi. P= preparat de stomac.

Se paralizează broasca, se descoperă cavitatea abdominală şi se secţionează un inel de stomac lat de 5-6 mm.Se secţionează inelul în lung şi paralel cu pliurile mucoasei, se introduc două bolduri la extremităţile preparatului. Boldurile vor juca rolul de excita-

tor şi servesc la întinderea preparatului de peniţa miografului.

Se aşează preparatul pe pluta miografului deasupra unui tamp de vată îmbibat în soluţie fiziologică şi se racordează la peniţa miografului.Ce strat muscular va antrena peniţa miografului?

Se aşează peniţa miografului şi a semnalului electromagnetic pe aceeaşi linie de plecare, se răsuceşte manual cilindrul kimografului (de ce?), după care se porneşte kimograful cu viteză redusă(10-15 cm/minut).Se închide circuitul electric şi se înregistrează o contracţie unică(Fig.19).

Pentru a înregistra o contracţie tetanică se va excita repetat preparatul, la intervale mai mari de timp.Între traseul miografului şi a semnalului electromagnetic, se înscrie timpul cu ajutorul cronografului.

Recomandări: Pe graficele obţinute se va calcula durata perioadei latente,a fazei de contracţie şi de relaxare.Urmărind lungimea iniţială a muşchiului, de observat contracţia lui ritmică.

2-Echipament necesar:baie Palmer pentru muşchi netezi;peniţă cu înscriere frontală;kimograf,cronograf,sursă de curent,întrerupător,ac de cusut,cutii Petri,semnal electromagnetic,soluţiile indicate mai jos,şobolan.

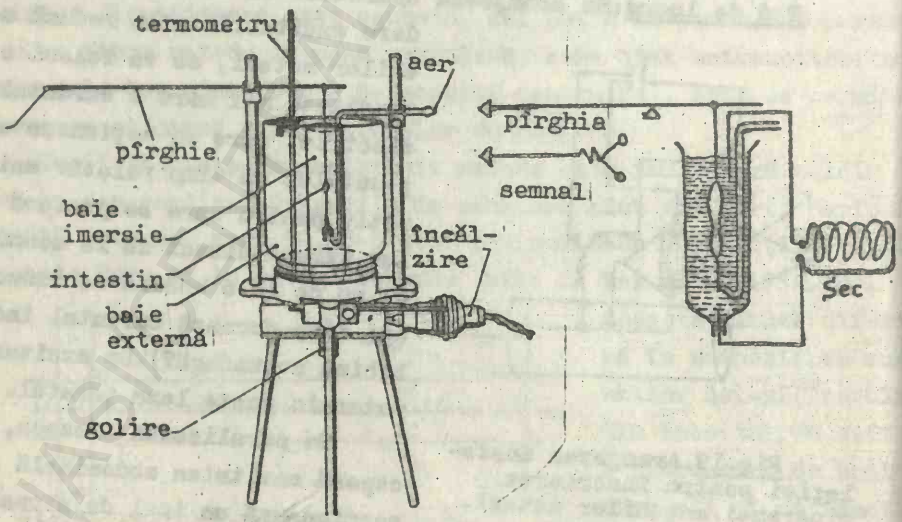


Fig.20.Baie Palmer pentru muşchi netezi.In partea dreaptă este reprezentat compartimentul intern mărit cu instalaţia pentru excitarea muşchiului.

Baia Palmer permite termostatarea lichidului din compartimentul extern, în care se introduce o baie de imersie pentru mușchi, ce conține un lichid adecvat pentru materialul biologic respectiv. Lichidul poate fi oxigenat prin barbotare cu aer sau oxigen.

Mod de lucru:Se umple compartimentul extern al băii cu apă și se aranjează temperatura la 38-40°C.Compartimentul intern se umple cu soluția Tyrode sau Locke caldă.

Se decapitează un șobolan.Se disecă rapid intestinul subțire și se plasează într-o cutie Petri mare, ce conține soluție Tyrode caldă într-un volum care să acopere tot intestinul.Se introduce o canulă într-un capăt de intestin și se racordează la un rezervor de soluție Tyrode caldă.Se secționează intestinul în 2 bucăți și se curăță interiorul intestinului.Capătul curățat se transferă în soluție Tyrode proaspătă.Se secționează o porțiune de intestin (de preferat ileon) de 3-4 cm prin care la capete se trece cu un ac de cusut cîte un fir de ață;un capăt al firului de ață se leagă de tubul de barbotare.Ținînd cu o mînă tubul de barbotare legat de intestin,se introduce cu atenție preparatul în camera mușchiului. Se racordează mușchiul de peniță înscriitoare prin intermediul firului de ață.Se pun mici bucăți de plastilină pe brațul rezistenței al peniței înscriitoare, încît mușchiul să fie ușor întins. Se face legătura tubului de barbotare cu sistemul de aer comprimat și se deschide robinetul în așa fel încît să se formeze un curent continuu de mici bule de aer.

Procedee experimentale: se pornește kimograful cu o viteză redusă(10-15 cm/minut).

1-Se lasă preparatul nederanjat, pînă apar contracții ritmice uniforme.Se vor înregistra timp de cîteva minute, contracțiile normale spontane.Obișnuit contracțiile unui preparat proaspăt se măresc după primele 5-15 minute.

2-Se va mări întinderea mușchiului, prin adăugare de plastilină la căpătul înscriitor al pîrghiei.Ce efect se observă în frecvența și amplitudinea contracțiilor ritmice?

3-Se oprește oxigenarea lichidului.După înregistrarea efectului, se repune oxigenarea în funcțiune.Se lasă cîteva minute pentru refacerea mușchiului.

4-Se aranjează circuitul electric ca în Fig.20.Ambele peniță (semnal electromagnetic și peniță cu înscriere frontală) se aranjează la același nivel.Verificați dacă excitantul unic poa-

te excita muşchiul.Se vor aplica excitanţi repetaţi.Ce efect se obţine?Se vor repeta excitanţii maximali la intervale de 1 sec. Primii 2-3 excitanţi sînt eficace?Puteţi obţine contracţii tetanice?Se vor trage concluzii cu privire la perioada latentă a muşchiului şi efectul excitanţilor repetaţi asupra muşchilor.

5- Se adaugă la soluţia Tyrode cîteva picături de adrenalină 1:10.000.După înregistrarea efectului, se drenează lichidul din cameră şi se înlocuieşte cu soluţia Tyrode proaspătă la 38°C.Pe timpul înlocuirii soluţiilor, trebuie ţinut preparatul cu mîna pentru a evita căderea lui.

6-Se adaugă cîteva picături de soluţie de acetilcolină 1:1000.După observarea efectului, se înlocuieşte soluţia Tyrode ca mai sus.

7-Se adaugă cîteva picături de soluţie de atropină 1:1.000. Se înregistrează efectul.Fără a spăla preparatul, se adaugă o cantitate dublă de acetilcolină, care a fost eficace în experienţ 6.

Recomandări:Se vor explica efectele obţinute în urma stimulării electrice, modificările după tensiune, anoxie, cît şi efectele excitatorii şi inhibitorii ale substanţelor folosite.

Intrebări de control:Ce inervaţie prezintă musculatura netedă şi care sînt deosebirile lor funcţionale în această privinţă comparativ cu musculatura striată?Cum explicaţi efectul motor diferit al acetilcolinei la nivelul muşchii cardiaci comparativ cu cei netezi?In care caz va fi mai mare consumul energetic:în contracţii tetanice ale muşchilor scheletici sau în contracţiile tonice de durată ale muşchilor netezi?

14.CURBA EXCITABILITATII. CRONAXIA MOTORIE.

O metodă simplă de evaluare a excitabilităţii ţesuturilor, constă în determinarea pragurilor de excitare.Cu cît excitabilitatea unui ţesut va fi mai mare, cu atît valoarea de prag a excitantului va fi mai mică.Ulterior s-a constatat că în apariţia procesului de excitaţie, are importanţă nu numai valoarea absolută a excitantului sau rapiditatea(bruscheţea) cu care el se aplică, ci şi timpul cît acţionează asupra ţesutului.Astfel dacă secţionăm rapid un nerv motor, s-ar putea ca muşchiul respectiv să nu se contracte .Importanţa factorului timp reiese deosebit de net la

ţesuturile cu reacţie lentă, cum sînt muşchii netezi, la care se constată că pentru a produce excitaţia, agentul excitant trebuie să acţioneze cu atît mai îndelungat, cu cît valoarea lui absolută este mai mică.Dacă se reprezintă grafic interrelaţia dintre intensitatea excitantului şi durata lui de acţiune,necesară apariţiei procesului de excitaţie, se obţine o curbă, care ca formă se apropie de o hiperbolă echilaterală (Fig.21).Curba respectivă poartă denumirea de curba excitabilităţii sau interrelaţia intensitate-timp.Din curba respectivă se observă că fiecărei intensităţi a curentului îi corespunde o durată minimă a acţiunii lui asupra ţesutului în vederea provocării procesului de excitaţie.Din aceeaşi curbă rezultă că există o valoare minimă a excitantului, care acţionînd nelimitat asupra ţesutului, este capabilă de a excita ţesutul.Valoarea acestui excitant de prag, poartă denumirea de <u>reobază</u>, iar timpul

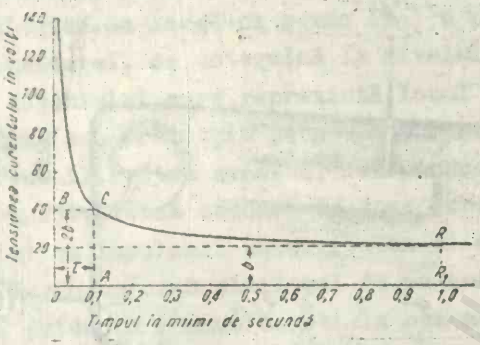


Fig.21.Curba excitabilităţii. OA=cronaxia;OR_1=timp util;OB2b= dublu reobazei; AR_1=reobaza.

minum, cu care excitantul cu valoare de reobază, trebuie să acţioneze asupra ţesutului, ca să provoace excitaţia, se numeşte <u>timp util</u>.

Pentru caracterizarea excitabilităţii din partea factorului timp, nu s-a ales timpul util al reobazei,a cărui determinare s-ar face foarte dificil(de ce?), ci <u>cronaxia</u>(Lapicque).Prin cronaxie se înţelege timpul minim cu care un excitant cu valoarea dublu reobazei, trebuie să acţioneze asupra ţesuturilor, ca să determine apariţia unui proces de excitare.Ea reprezintă o măsură cantitativă a gradului de excitabiliatate a ţesuturilor.Cu cît un ţesut este mai excitabil, cu atît valoarea cronaxiei va fi mai mică.Se exprimă obişnuit în milisecunde(ms).Pentru muşchii striaţi ai omului, cronaxia oscilează între 0,08-0,72 ms;muşchii flexori au o cronaxie de două ori mai mică decît extensorii respectivi.

Cronaxia permite aprecierea gradului capacităţii de muncă a muşchilor în stări patologice, motiv pentru care metoda cronaximetrică şi-a găsit o largă aplicare în practica medicală.In prezent

s-au elaborat metode de determinare nu numai a cronaxiei motorii ci şi a cronaxiei senzoriale.

Determinarea cronaxiei se face cu ajutorul cronaximetrului.

Echipament necesar: cronaximetru;electrozi,soluţie fiziologică.

Cronaximetrul (Fig.22) este un aparat electronic, ce generează impulsuri de excitare de formă rectangulară cu o durată de la 0,01-200ms şi amplitudine maximă-20mA.Intensitatea impulsurilor d

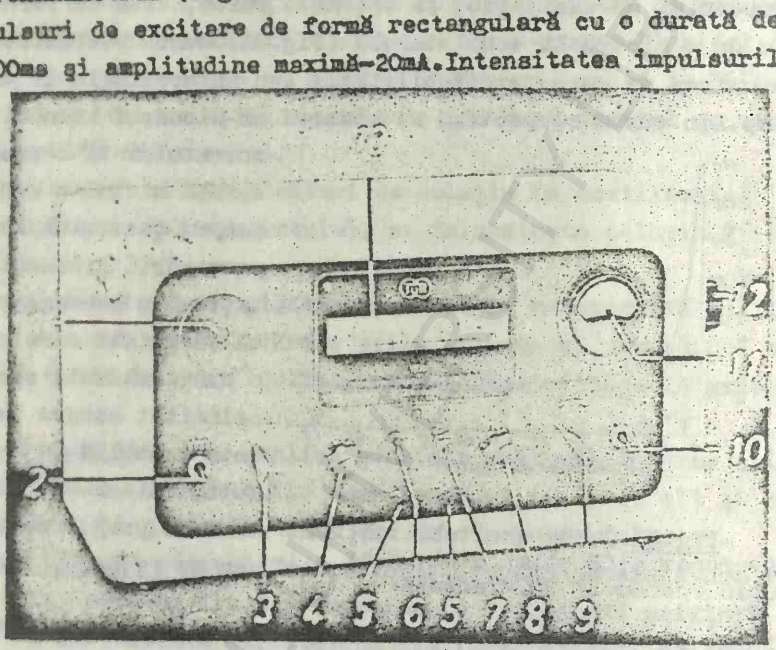


Fig.22.Cronaximetru.

excitare, este reglată cu ajutorul comutatorului 8(rotind spre dreapta, intensitatea creşte).Mărimea exactă a impulsurilor se citeşte pe scala miliampermetrului(11) în felul următor:se aduce acul instrumentului de măsură în poziţia zero(cu butonul 7), după care se apasă pe butonul 6 şi se notează devierea maximă a acului.

Durata impulsului este reglată cu ajutorul comutatorului duratei(4) şi a scalelor(12).Setul de condensatori, ce determină impulsuri reglate cu comutatorul 4, este cuplat în circuit numai în momentul cînd comutatorul dublării reobazei(3), este pus spre dreapta(dublu reobazei).Cînd comutatorul este pus spre stînga(3), aparatul generează impulsuri cu durată fixă de aproximativ 100ms. Excitantul poate fi aplicat sub formă de impuls unic, prin apăsare pe butonul 6, iar comutatorul tipului de impuls(2), fiind pus în jos, sau prin trenuri de impulsuri(aprox. 30 impulsuri/minut)

cînd butonul tipului de impuls(2) este ridicat.

Mod de lucru:Obişnuit cronaxia motorie se determină la muşchii flexori ai degetelor.In determinarea ei, se utilizează excitarea unipolară.Pentru aceasta electrodul indiferent-anodul- care are suprafaţă mare, se acoperă cu tifon umectat cu soluţia fiziologică şi se aplică pe braţul mîinii de analizat sau pe pumnul mîinii opuse.Avînd suprafaţă mare, densitatea curentului pe unitate de suprafaţă, va fi sub prag şi deci nu va excita.Se leagă de borna (+5).Electrodul explorator(activ)-catodul-, are o suprafaţă mică(Ø=0,5 cm).Vîrful se acoperă cu tifon umectat în soluţie fiziologică.Se leagă de borna (5-) a cronaximetrului.La începutul experienţei, se determină la nivelul antebraţului punctul motor al muşchiului,care reprezintă locul de pătrundere a nervului în muşchi(sau proiecţia pe piele a ramificaţiei intramusculare a nervului).Pentru aceasta, folosindu-ne de harta punctelor motorii (Fig.23),aducem catodul în zona corespunzătoare a antebraţului şi trimitem impulsuri unice (buton 6) de intensitate reglată(8).Se va marca cu cerneală locul de pe antebraţ, unde apare flexia cea mai evidentă a unui deget la cea mai mică intensitate a curentului.Acest punct constituie punctul motor al muşchiului flexor al degetului.In continuare se va folosi pentru excitare numai acest punct.

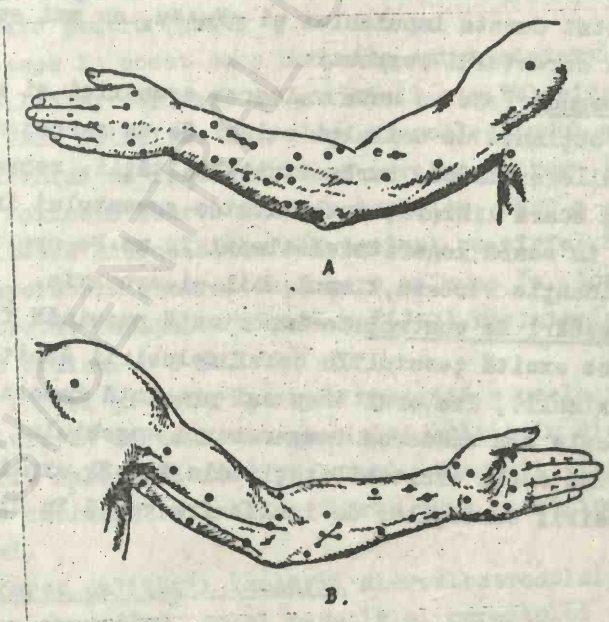


Fig.23.Harta punctelor motorii.A-suprafaţa laterală; B-suprafaţa ventrală

Se aplică catodul în punctul motor, butonul tipului de impuls (2) se pune pe poziţia impulsuri automate(sus), iar cu comutatorul intensităţii(8), mărim treptat amplitudinea impulsului pînă cînd apare o contracţie de prag a muşchiului flexor.Se pune butonul 2 în jos, se aduce acul instrumentului la zero(cu 7) şi prin apăsare pe butonul 6 se citeşte intensitatea curentului.Această mărime reprezintă reobaza.

Se pune indicatorul duratei impulsului(4) la durata cea mai mică a impulsului.Dublăm reobaza(comutatorul 3 spre dreapta),declanşăm impulsuri automate şi mărim treptat durata impulsului(cu 4) pînă obţinem o contracţie de prag a muşchiului flexor.Timpul citit pe scală(13), reprezintă cronaxia.

Pentru a determina curba excitabilităţii procedăm în felul următor:punem scara timpului la durata cea mai mare a impulsului (200 ms).Butonul 3 îl vom menţine tot timpul în poziţia dublu reobazei(spre dreapta).Declanşăm impulsuri automate(2 în sus) şi cu comutatorul intensităţii impulsului(8), mărim intensitatea curentului, pînă obţinem contracţia de prag.Se notează intensitatea curentului şi durata impulsului respectiv.Modificăm (micşorăm apoi treptat durata impulsului şi căutăm, ca mai sus, valoarea de prag a curentului respectiv.

Recomandări:Se va nota valoarea cronaxiei şi se vor compara valorile obţinute de ceilalţi colegi.Se va reprezenta grafic pe scară semilogaritmică, curba excitabilităţii, reprezentînd pe ordonată în scară liniară, intensitatea curentului în mA, iar pe abscisă, în scară logaritmică-timpul în ms.Pe graficul obţinut se va evidenţia reobaza,timpul util şi cronaxia.

Intrebări de control:Ce importanţă prezintă forma impulsului cu care se excită ţesutul?In cazul folosirii excitanţilor puterni (supramaximali), factorul timp mai prezintă importanţă?Ce efect are oboseala sau scăderea temperaturii muşchiului asupra cronaxiei?Urmărind curba excitabilităţii din Fig.21,explicaţi posibilitatea folosirii curenţilor de înaltă frecvenţă în diatermie.

trodului în soluţie, are loc închiderea circuitului şi începerea electrolizei.Deoarece vîrful electrodului intră primul în mediul de electroliză şi tot el iese ultimul, el va fi supus electrolizei un timp mai îndelungat, motiv pentru care sîrma (electrodul) se ascute în cele din urmă sub forma conică.In prima etapă a electrolizei, se trece un curent de 0,03A pe electrod(concomitent pot fi ascuţiţi cîţiva electrozi), iar final se utilizează o intensitate mai redusă.Iniţial electrodul se supune electrolizei un timp mai mare(30-60 sec.), iar imersiunile ulterioare se fac la o adîncime mai mică şi pentru un timp mai scurt.Controlînd la microscop, se continuă electroliza pînă cînd vîrful electrodului ajunge la un diametru de 2-5μ.In general durează aproximativ 2 minute.

Imediat după aceasta, se introduce electrodul succesiv în soluţia concentrată de CO_3Na_2 pentru neutralizarea aciditǎţii, apoi în CH_3COOH 1%, alcool,eter.Capătul larg al electrodului se acoperă cu cupru, pentru uşurarea racordării la conductori.

Izolarea microelectrozilor:materialul izolator trebuie să îndeplinească următoarele condiţii:să nu mărească Ø vîrfului electrodului;să adere bine de metal;să aibă o rezistenţă ohmică suficient de înaltă;să aibă o suprafaţă netedă şi dreaptă;să nu-şi piardă din calităţi prin utilizarea repetată a microelectrodului; să nu fie toxic pentru ţesut.

Se folosesc în acest scop diferite substanţe:emailuri, lacuri, compuşi de siliciu, derivaţi de polivinil,etc.Folosirea lacului warnisch se face astfel:se introduce microelectrodul pentru 30 sec. în soluţia lichidă de izolator, după care se extrage încet încît să rămînă o peliculă foarte fină de izolator, fără a se forma picături.Se fixează microelectrodul vertical cu vîrful în sus, se usucă la temperatura camerei după care se pune în etuvă la 180°C pentru 2-4 ore.Se repetă de cîteva ori(2-3).Rezistenţa acestei izolări este de ordinul a 2 MΩ.

Se pot folosi şi lacuri, ce nu necesită o prelucrare termică: celuloid solvit în acetonă sau plexiglas solvit în dicloretan sau cloroform.Prin aplicarea acestor lacuri, obişnuit vîrful electrodului rămîne dezizolat.O izolare foarte bună se obţine şi cu ajutorul sticlei.

Verificarea calităţii izolării microelectrodului, se face electrolitic ,racordînd polul negativ al curentului continuu(1,5 V) la electrod, iar anodul-la soluţia fiziologică din cutia Petri,pusă pe un fond negru.Prin închiderea circuitului, apar bule

de gaz din zona dezizolată, care se văd cu ochiul liber.Izolaţia poate fi verificată şi prin deplasarea microelectrodului printr-o peliculă de soluţie fiziologică întinsă în inelul de sîrmă dezizolată(Fig.32).In momentul cînd vîrful microelectrodului atinge pelicula de lichid,se închide circuitul electric,care va fi indicat de instrumentul de măsură.Deplasînd treptat microelectrodul prin pelicula de soluţie, se va observa că la nivelul la care există o zonă dezizolată,acul instrumentului oscilează.

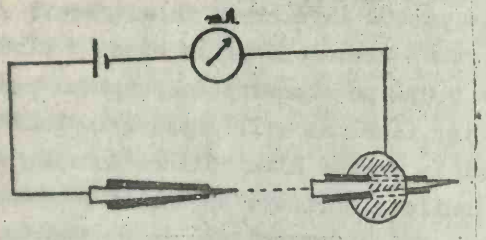


Fig.32.Schema pentru verificarea izolării microelectrozilor.

Intrebări de control:Care este destinaţia microelectrozilor? De ce nu putem folosi microelectrozi metalici pentru derivarea potenţialelor de repaus?

19.POTENTIALUL DE REPAUS AL FIBREI MUSCULARE STRIATE

Pentru măsurarea potenţialului de membrană, este necesar de a pătrunde în interiorul celulei cu microelectrodul şi folosind un amplificator de curent continuu, să înregistrăm diferenţa de potenţial,care există între interiorul celulei şi ţesuturile înconjurătoare.Existenţa diferenţei de potenţial va fi indicată d saltul potenţialului, care apare în momentul străpungerii membran celulare.Acest salt de potenţial determină o denivelare bruscă a spotului oscilografului de pe linia izoelectrică.Schematic acest lucru se observă în Fig.33(pe ecranul oscilografului catodic) .Fi 34 reprezintă înregistrarea momentului pătrunderii microelectrodului în interiorul fibrei musculare striate.

Echipament necesar:amplificator de curent continuu cu repetitor(repetor) catodic;oscilograf catodic cu amplificator de curent continuu;microelectrozi de sticlă umpluţi cu KCl 3M;micromanipulator;electrod impolarizabil;cameră umedă pentru fixarea preparatului;trusă de disecţie;clorură de tubocurarină 2.10^{-6}M(2 µg/ml); soluţie Ringer;ulei de parafină; broască.

Mod de lucru:se dă drumul amplificatorului de curent, pentru încălzire prealabilă.

Se prepară muşchiul sartorius de broască.Deoarece vîrful

tea crescută de la catod, scade rapid la nivelul de plecare, după care diminuează pînă la dispariţia completă (depresiunea catodică Verigo).In aceleaşi condiţii experimentale, modificări în sens invers suferă şi excitabilitatea segmentului anodic al nervului-după diminuarea iniţială, revine la nivelul de plecare.

Fenomenele electrotonice pot fi demonstrate prin metode miografice, comparînd valorile de prag ale excitanţilor pentru nervul normal, cu pragurile obţinute din segmentul catodic şi segmentul anodic al nervului străbătut de curentul electrotonizant(continuu). Deoarece apariţia excitaţiei în nerv o evidenţiem prin contracţia muşchiului, aducem polul electrodului,sub care analizăm modificările excitabilităţii, mai aproape de muşchi;în felul acesta, procesul de excitare, care apare sub excitator, nu are nici o piedică în drumul său spre muşchi.In acest scop vom lucra pe rînd în curent ascendent şi descendent (Fig.43).

Echipament necesar:kimograf;electrozi impolarizabili;excitator; bobină de inducţie;întrerupător; cheia Pohl;sursă de curent;trusă de disecţie;miograf,broasca.

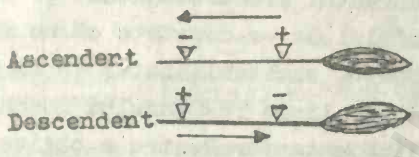


Fig.43.Aranjarea electrozilor pentru curent electrotonizant ascendent sau descendent.

Mod de lucru:aranjăm circuitul electric pentru determinarea pragului de excitare.Pentru curentul electrotonizant, aparatele se aranjează ca în Fig.44.Cheia Pohl va servi ca inversor al sensului curentului, motiv pentru care se păstrează barele de legătură ale bornelor laterale.Bornele de la acumulator se racordează la bornele centrale ale cheii Pohl iar de la o pereche de borne laterale, ducem curentul la electrozii impolarizabili. Schimbînd comutatorul cheii Pohl de la o pereche de borne laterale la cealaltă,schimbăm sensul curentului electrotonizant.

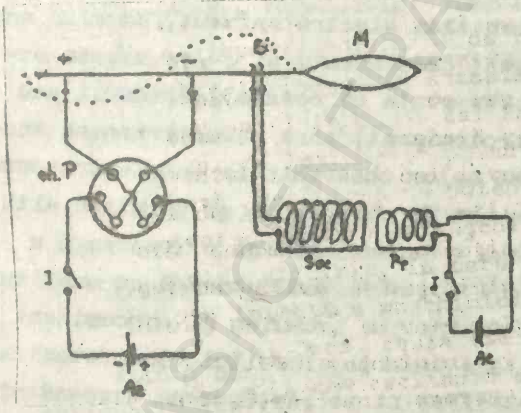


Fig.44.Instalarea aparatelor pentru cercetarea electrotonusului în curent descendent.

Se pregăteşte preparatul sciatic-gastrocnemian de broască.

de gaz din zona dezizolată, care se văd cu ochiul liber.Izolaţia poate fi verificată şi prin deplasarea microelectrodului printr-o peliculă de soluţie fiziologică întinsă în inelul de sîrmă dezizolată(Fig.32).In momentul cînd vîrful microelectrodului atinge pelicula de lichid,se închide circuitul electric,care va fi indicat de instrumentul de măsură.Deplasînd treptat microelectrodul prin pelicula de soluţie, se va observa că la nivelul la care există o zonă dezizolată,acul instrumentului oscilează.

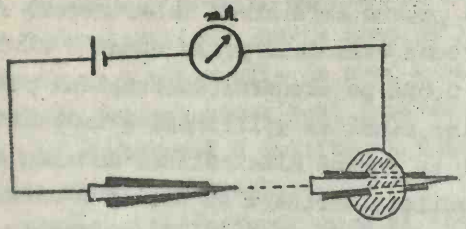


Fig.32.Schema pentru verificarea izolării microelectrozilor.

Intrebări de control:Care este destinaţia microelectrozilor? De ce nu putem folosi microelectrozi metalici pentru derivarea potenţialelor de repaus?

19.POTENTIALUL DE REPAUS AL FIBREI MUSCULARE STRIATE

Pentru măsurarea potenţialului de membrană, este necesar de a pătrunde în interiorul celulei cu microelectrodul şi folosind un amplificator de curent continuu, să înregistrăm diferenţa de potenţial,care există între interiorul celulei şi ţesuturile încenjurătoare.Existenţa diferenţei de potenţial va fi indicată d saltul potenţialului, care apare în momentul străpungerii membran celulare.Acest salt de potenţial determină o denivelare bruscă a spotului oscilografului de pe linia izoelectrică.Schematic acest lucru se observă în Fig.33(pe ecranul oscilografului catodic) .Fi 34 reprezintă înregistrarea momentului pătrunderii microelectrodului în interiorul fibrei musculare striate.

Echipament necesar:amplificator de curent continuu cu repeti tor(repetor) catodic;oscilograf catodic cu amplificator de curen continuu;microelectrozi de sticlă umpluţi cu KCl 3M;micromanipul tor;electrod impolarizabil;cameră umedă pentru fixarea preparatu lui;trusă de disecţie;clorură de tubocurarină 2.10^{-6}M(2 µg/ml); soluţie Ringer;ulei de parafină; broască.

Mod de lucru:se dă drumul amplificatorului de curent, pentr încălzire prealabilă.

Se prepară muşchiul sartorius de broască.Deoarece vîrful

tea crescută de la catod, scade rapid la nivelul de plecare, după care diminuează pînă la dispariţia completă (depresiunea catodică Verigo).In aceleaşi condiţii experimentale, modificări în sens invers suferă şi excitabilitatea segmentului anodic al nervului-după diminuarea iniţială, revine la nivelul de plecare.

Fenomenele electrotonice pot fi demonstrate prin metode miografice, comparînd valorile de prag ale excitanţilor pentru nervul normal, cu pragurile obţinute din segmentul catodic şi segmentul anodic al nervului străbătut de curentul electrotonizant(continuu). Deoarece apariţia excitaţiei în nerv o evidenţiem prin contracţia muşchiului, aducem polul electrodului,sub care analizăm modificările excitabilităţii, mai aproape de muşchi;în felul acesta, procesul de excitare, care apare sub excitator, nu are nici o piedică în drumul său spre muşchi.In acest scop vom lucra pe rînd în curent ascendent şi descendent (Fig.43).

Echipament necesar:kimograf;electrozi impolarizabili;excitator; bobină de inducţie;întrerupător; cheia Pohl;sursă de curent;trusă de disecţie;miograf,broasca.

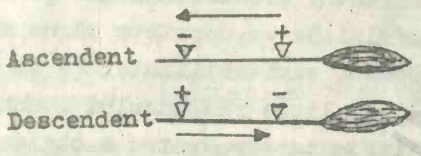


Fig.43.Aranjarea electrozilor pentru curent electrotonizant ascendent sau descendent.

Mod de lucru:aranjăm circuitul electric pentru determinarea pragului de excitare.Pentru curentul electrotonizant, aparatele se aranjează ca în Fig.44.Cheia Pohl va servi ca inversor al sensului curentului, motiv pentru care se păstrează barele de legătură ale bornelor laterale.Bornele de la acumulator se racordează la bornele centrale ale cheii Pohl iar de la o pereche de borne laterale, ducem curentul la electrozii impolarizabili. Schimbînd comutatorul cheii Pohl de la o pereche de borne laterale la cealaltă,schimbăm sensul curentului electrotonizant.

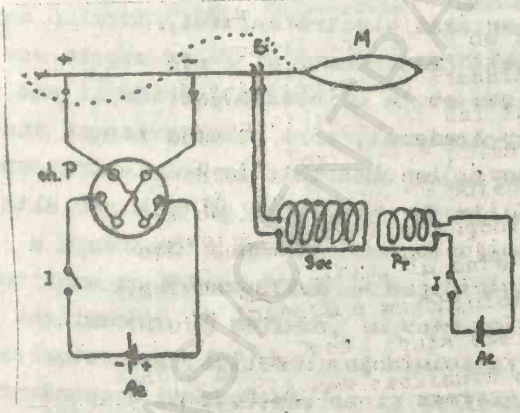


Fig.44.Instalarea aparatelor pentru cercetarea electrotonusului în curent descendent.

Se pregăteşte preparatul sciatic-gastrocnemian de broască.

Legăm m.gastrocnemian de peniţa miografului şi aplicăm pe nerv cei 2 electrozi impolarizabili la distanţă unul de altul (De ce?) În apropierea electrodului impolarizabil proximal, punem nervul pe excitatorul circuitului de determinare a pragului.

Determinăm iniţial pragul de excitare la curent indus şi înregistrăm contracţia de prag(Vz. lucrarea 7).Pentru simplificare, înregistrarea poate fi înlocuită cu observarea vizuală a gradului de contracţie a muşchiului.După ce s-a determinat pragul, închide circuitul electrotonizant şi măsurăm din nou excitabilitatea aceluiaşi segment de nerv.Dacă în apropierea excitatorului se află catodul, excitabilitatea nervului va fi mărită(contracţia muşchiului va fi mai mare la aceeaşi intensitate a excitantului) şi pentru a obţine numai contracţia de prag, va trebui să depărtăm bobinele între ele.De notat valoarea noului prag.

Aducem bobina secundară la valoarea pragului iniţial (nerv normal) după care întrerupem curentul electrotonizant şi determinăm valoarea pragului în zona catodului.Se va constata că un scurt interval de timp de la întrerupere, excitabilitatea va fi diminuată, ceea ce se exteriorizează prin lipsa răspunsului muşchiului la intensitatea de prag stabilită anterior.Pentru a obţine contracţie de prag, este nevoie de a mări intensitatea curentului indus. După un timp de la întreruperea curentului electrotonizant, excitabilitatea nervului revine.Se va verifica.

Se va schimba sensul curentului electrotonizant, aducînd anodul mai aproape de muşchi(curent descendent).şi se va repeta experienţa ca mai sus.Efectele observate cu ocazia închiderii sau întreruperii curentului electrotonizant, care caracterizează anelectrotonusul, vor fi inverse celor observate la catelectrotonus.

Fenomenele electrotonice pot fi verificate şi printr-o altă variantă experimentală:se alege o intensitate şi o frecvenţă a curentului indus, care provoacă o contracţie tetanică cu amplitudine redusă.Se înregistrează contracţia tetanică şi concomitent (fără întreruperea excitării) se închide circuitul electrotonizant. Dacă în apropierea excitatorului va fi catodul(curent descendent) se va observa o creştere evidentă a contracţiilor musculare.După întreruperea circuitului electrotonizant, se va observa o curbă descendentă a tetanosului, după care forţa de contracţie revine treptat.Schimbînd sensul curentului electrotonizant(ascendent),se va repeta experienţa.

zic.Datorită rapidităţii cu care se desfăşoară potenţialele de acţiune bifazice, pentru a le putea înregistra, este nevoie de aparate cu inerţie mică-oscilografe catodice cu amplificatori.

17.POTENŢIALUL DE ACTIUNE AL NERVULUI INREGISTRAT CU AJUTORUL OSCILOGRAFULUI.

Potenţialul de acţiune al nervului, diferă în multe privinţe de potenţialul de acţiune al fibrelor nervoase izolate.El nu se supune legii tot sau nimic, ci se observă o relaţie gradată funcţie de intensitatea excitantului;diferă prin valoarea pragului de excitare,prin viteza de propagare,prin caracterul curbei înregistrate,etc.

Caracterul curbei potenţialului de acţiune, depinde în mare măsură de condiţiile de derivare (Fig.27).

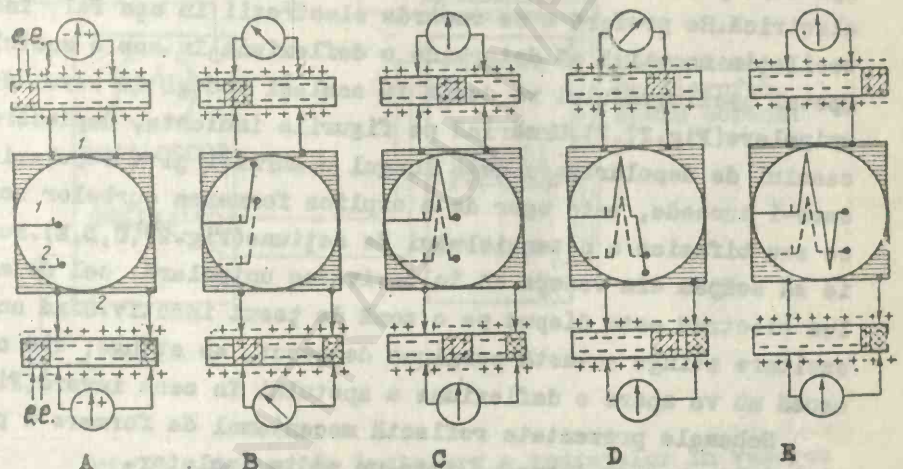


Fig.27.Schema formării curbei potenţialului de acţiune prin derivare bipolară(1) sau unipolară(2).

Există două moduri principale de derivare a potenţialului de acţiune:1-cînd ambii electrozi sînt plasaţi pe suprafaţa intactă a nervului-derivare bipolară- caz în care potenţialul se înregistrează sub forma unei unde bifazice (Fig.27,1E); 2-cînd un electrod este plasat pe o zonă intactă a nervului, iar cel de al doilea-pe o porţiune de nerv lezată sau pe un ţesut inactiv-derivare uni-

polară-.In acest caz potenţialul de acţiune ne apare sub forma unei oscilaţii monofazice(Fig.27,2B).

Schema reprezentată mai sus, explică mecanismul apariţiei acestor unde şi cauza diferenţelor ce există între ele.Sub acţiunea excitantului aplicat cu ajutorul electrozilor de excitare (Fig.27,A,e.e.),apare pe nerv unda de excitare.Propagîndu-se de-lungul nervului, atinge primul electrod de derivare.Deoarece zona excitată este electronegativă comparativ cu zona neexcitată, între primul electrod sub care a ajuns unda de negativizare şi cel de al doilea electrod, care se află pe o zonă a nervului încă în repaus se va înregistra o diferenţă de potenţial, sub influenţa căruia are loc o deplasare a spotului oscilografului,înregistrîndu-se oscilaţia negativă a potenţialului(Fig.27,1B).Funcţie de modul de racordare a electrozilor la intrarea în oscilograf, deflexiunea spotului poate fi îndreptată în sus sau în jos faţă de linia izoelectrică.Se preferă a se racorda electrozii în aşa fel, încît oscilaţia negativă să determine o deflexiune în sus a spotului. Spotul oscilografului va devia în acelaşi mod şi în cazul derivării unipolare(Fig.27,2).Urmărind pe figurile indicate, deplasarea procesului de depolarizare de-a lungul membranei şi a repolarizării care-i succede, este uşor de a explica formarea curbelor monofazice sau bifazice a potenţialului de acţiune(Fig.27,C,D,E).Nu trebuie să scăpăm din vedere că în derivarea unipolară, cel de al doilea electrod este dispus pe o zonă de ţesut inactiv.Cînd unda de excitare atinge această porţiune de ţesut, se stinge, din care cauză nu va apare o deflexiune a spotului în sens invers(Fig.27,

Schemele prezentate reflectă mecanismul de formare a potenţialului la un nerv introdus într-un mediu izolator.

Deoarece potenţialul de acţiune, care apare în nerv sub influenţa impulsurilor generate de către stimulator, este foarte s el trebuie amplificat în prealabil cu ajutorul unui preamplificator.Semnalul electric este condus în continuare la osciloscopul catodic, un instrument ce transformă impulsul electronic într-un spot luminos,prin lovirea fasciculului de electroni a unui ecran fluorescent.

Echipament necesar: instalaţia pentru derivarea potenţialului de acţiune(amplificator de curent alternativ,osciloscop catodic,stimulator), electrozi de excitare şi derivare,camera umedă

ulei de parafină, soluţie Ringer, trusă de disecţie, br... scă.

Mod de lucru: se aranjează aparatele ca în schema de mai jos (Fig.28).

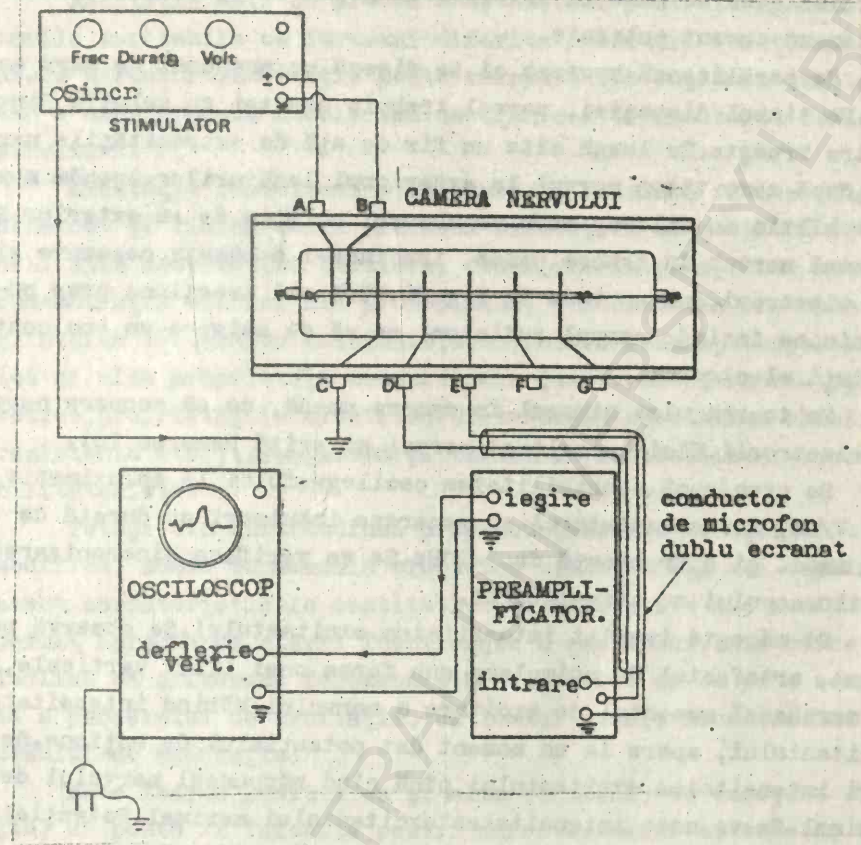


Fig.28. Schema de instalare a aparatelor în vederea înregistrării biopotenţialelor.

Se racordează conductorii de la stimulator, la primii electrozi din camera umedă(A,B).Bornele de sincronizare ale stimulatorului se racordează la baza de timp a osciloscopului.Preamflificatorul se racordează la electrozii de derivare D şi E din camera umedă.Electrodul C, plasat între electrozii de excitare şi cei de derivare, este racordat la masă.

Se deschide aparatul şi se încălzeşte cîteva minute.Se centrează şi se focalizează spotul oscilografului.A nu se lăsa un

spot luminos puternic, staţionar pe ecranul fluorescent, pentru nu afecta ecranul.Se sincronizează baza de timp a osciloscopului cu ieşirea de la stimulator.Amplificatorul impulsurilor generate de stimulator,se pune la zero.Nervul poate fi uşor lezat, dacă trecem un curent puternic.

Se paralizează broasca şi se disecă un preparat de nerv sciatic.Pe timpul disecţiei, nervul trebuie umectat cu soluţie Ringer pentru broaşte.Se leagă cîte un fir de aţă de extremităţile nervului,după care tăiem nervul la exteriorul legăturilor.Aşezăm nervul pe o hîrtie de filtru, care va absorbi soluţia de la exterior.Se fixează nervul în camera umedă, trecîndu-l succesiv deasupra şi sub electrozi,cum se vede în Fig.28.Fără a-l tracţiona prea puternic,se întinde nervul suficient ca să se asigure un bun contact cu toţi electrozii.

Se toarnă ulei mineral în camera umedă, ca să acopere nervul şi electrozii.Uleiul izolează nervul şi evită uscarea lui.

Se aranjează sensibilitatea osciloscopului la aproximativ 0,5 V/cm, iar stimulatorul să genereze impulsuri cu durată de 0,1 msec. şi o frecvenţă de 5-20Hz.Se va verifica sincronizarea osciloscopului cu stimulatorul.

Se măreşte treptat intensitatea excitantului.Se observă pe ecran, artefactul de stimulare sub forma unei linii verticale, care marchează momentul de excitare a nervului.Mărind intensitatea excitantului, apare la un moment dat potenţialul de acţiune.Se va mări intensitatea excitantului pînă cînd răspunsul nervului devine maximal.Se va nota intensitatea excitantului maximal.Potenţialul de acţiune va apare sub forma undei bifazice.De ce?

Se va compara forma difazică a undei înregistrate între electrozii D şi E cu forma înregistrată între electrozii D şi F şi D şi G.De ce se modifică forma undei?

Se va strivi nervul pe o porţiune apropiată de electrodul G care este racordat la preamplificator.Excitînd din nou nervul, se va observa forma monofazică a curentului de acţiune.

Pe baza curbei de calibrare, se va determina amplitudinea şi durata potenţialului de acţiune

Recomandări:se va desena forma potenţialelor în derivările folosite.

Intrebări:Cum apare unda mono- şi bifazică a potenţialului de acţiune?

18. TEHNICA MICROELECTROZILOR.

Destinaţia microelectrozilor.

Excitaţia este un proces complex, care poate să apară în ţesuturile excitabile ce formează diferite structuri funcţionale. In unele structuri, excitaţia poate să apară sub acţiunea excitanţilor sau a unor procese locale sau ca urmare a transmiterii de la alte structuri.

Excitaţia reprezintă o însumare de fenomene fizice, fizico-chimice şi biologice. In procesul excitaţiei se modifică permeabilitatea membranelor celulare, desfăşurarea reacţiilor metabolice; concentraţia ionilor din protoplasmă; vîscozitatea protoplasmei şi starea sistemelor coloidale; activitatea fermenţilor; elasticitatea şi alte proprietăţi mecanice ale ţesuturilor; proprietăţile lor optice; proprietăţile electrice (distribuţia sarcinilor electrice, rezistenţa etc); termogeneza şi termoliza; excitabilitatea, conductibilitatea, etc.

Totuşi din multitudinea proprietăţilor şi reacţiilor care se modifică, numai fenomenele electrice reflectă cel mai deplin şi exact caracteristicile cantitative şi calitative ale excitaţiei şi permit aprecierea stării funcţionale a ţesutului. Unii cercetători înclină să privească fenomenele bioelectrice nu ca pe o componentă a procesului de excitaţie, cî însăşi esenţa mecanismului procesului de excitaţie.

Este foarte posibil ca şi alte fenomene, ce însoţesc excitaţia, să poată fi folosite pentru caracterizarea ei exactă, dacă am dispune de metode fine şi rapide de înregistrare a dinamicii acestor fenomene. Deocamdată astfel de posibilităţi există numai pentru înregistrarea proceselor electrice.

Fenomenele electrice care însoţesc excitaţia, se dezvoltă la nivelul membranei celulare. De aceea studiul mecanismelor de geneză, propagare şi transfer al excitaţiei, necesită cercetarea dinamicii transportului de sarcini între suprafaţa externă şi cea internă a membranelor celulelor izolate. Pentru aceasta este necesar de a pătrunde în interiorul celulei în aşa fel, încît să n-o lezăm. Aceasta se poate realiza cu ajutorul microelectrozilor. In studiul organizării funcţionale a sistemului nervos, deseori se simte nevoia de a înregistra potenţialul de acţiune al unei singure

celule sau a unui număr limitat de celule.In acest scop se utilizează de asemenea microelectrozii.Deci microelectrozii se folosesc pentru derivarea potenţialelor intra- sau extracelulare.

Microelectrozii intracelulari trebuie să aibă vîrful cu un diametru sub un micron(μ)(pentru celule nervoase 0,2-0,4 μ). Astfel de electrozi se confecţionează din sticlă.Microelectrozii pentru derivarea biopotenţialelor extracelulare, pot avea vîrful mai gros.Se confecţionează din sticlă sau metal.

Dacă dorim să excităm şi să derivăm potenţialul din aceeaşi celulă, se utilizează microelectrozi cu două canale izolate.In Fig.33 este reprezentat un microelectrod cu două canale.Sînt microelectrozi şi cu cinci canale(Eccles), care se pot folosi pentru studiul influenţei diferitelor substanţe asupra aceleeaşi celule. Injectarea substanţei din electrod în celulă se realizează obişnuit prin ionoforeză.Cantitatea de substanţă injectată, va fi funcţie de intensitatea curentului(10^{-8}-10^{-7} A) şi durata lui de acţiune.Orientarea sensului curentului se face funcţie de ionul pe care dorim să-l injectăm.Cum?

1.Confecţionarea microelectrozilor din sticlă.

Acest electrod reprezintă un tub de sticlă cu vîrful conic avînd un diametru sub un micron.Umplerea electrozilor se face cu săruri saline (obişnuit KCl 3M).Ionii soluţiei joacă rol de mediu conductor intern.

Echipament necesar:aparat pentru confecţionat microelectrozi tub sticlă Pyrex Ø 1-7mm;instalaţie pentru umplerea electrozilor; soluţie KCl 3M.

Mod de lucru:microelectrozii de sticlă se confecţionează din tuburi de sticlă greu fuzibilă (Pyrex), cu diametru 1-7 mm.Tehnologia confecţionării poate fi foarte variată-începînd cu tragerea manuală a electrozilor pînă la automatizarea completă a procesului. In cadrul fiecărui procedeu, tragerea electrozilor se efectuează în cîteva etape(2-3).Iniţial se aduce diametrul tubului la 50-100 μ, apoi 10-20 μ şi în sfîrşit pînă la diametru sub 1 μ.Cea de a doua etapă de regulă se omite.

Tragerea manuală necesită relativ mult timp, iar dimensiunile şi forma vîrfului microelectrodului, variau destul de mult.Ulterior în locul flăcării obişnuite, se folosea o rezistenţă de platină (3-5 spire,Ø 0,5mm), încălzită electric cu un curent reglat de un autotransformator.Încălzirea electrică,înmoaie sticla.Sub acţiu-

forţei de tracţiune, exercitată asupra tubului de sticlă, are loc alungirea şi subţierea tubului, rezultînd prin rupere doi microelectrozi (Fig.29). Instalaţiile moderne sînt complet automatizate. Tuburile de sticlă (lungime de 8 cm), înainte de folosire se ţin în apă distilată. Înainte de folosire, se usucă suprafaţa externă a tubului, iar cea internă rămîne umedă. Prin încălzirea sticlei cu ocazia tragerii electrozilor, apa se evaporă, iar în timpul răcirii capilarului-se condensează şi umple porţiunea cea mai subţire a vîrfului electrodului.

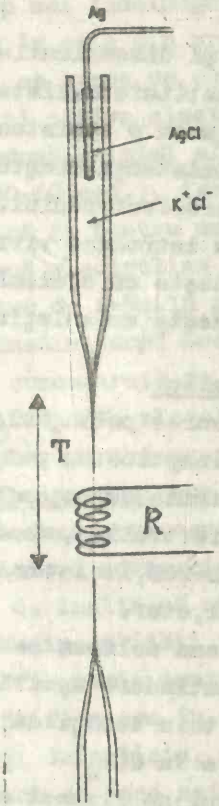


Fig.29. Un procedeu de confecţionare şi racordare a microelectrozilor. T=tracţiune; R=rezistenţă electrică.

Umplerea electrozilor: se fixează microelectrodul pe un suport cu vîrful în jos (Fig.30). Suportul este fixat de un dop, care astupă ermetic flaconul umplut cu KCl 3M. Prin dop trece un tub racordat la o pompă de apă. Se încălzeşte soluţia pînă la fierbere, iar vaporii se evacuează încet cu ajuterul pompei de apă. Din capetele lăţite ale electrozilor încep să iasă bule de aer, ceea ce constituie un indiciu al umplerii electrozilor cu soluţie. Umplerea electrozilor este completă, cînd au încetat să iasă bule de aer. Această operaţie durează 10-15 minute. Folosirea KCl este dictată de necesitatea limitării potenţialului propriu de difuzie. În plus, datorită concentraţiei mari a ionului de K în interiorul celulei (aprox. 0,12M), o difuzie a electrolitului din vîrful electrodului în celulă, nu modifică semnificativ concentraţia acestui ion, evitîndu-se efectele nedorite asupra celulei.

Pînă la folosire, electrozii se păstrează în cutii Petri cu soluţie KCl 3M. Neajunsul microelectrozilor de sticlă constă în imposibilitatea menţinerii

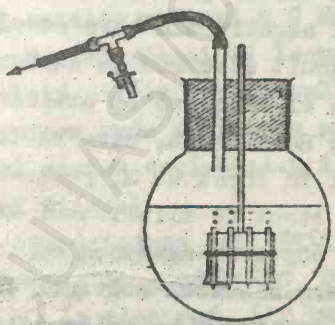


Fig.30. Instalaţia pentru umplerea microelectrozilor.

lor îndelungate după umplere, deoarece peste un timp(maxim i săptămînă), încep să se depună cristali de KCl în fundul micropipetei, ceea ce duce la modificarea rezistenţei lor şi final la imposibilitatea folosirii lor.

Inainte de folosire, se verifică forma şi dimensiunile lor. Un indicator bun al dimensiunii vîrfului constituie rezistenţa lui.Microelectrozii cu Ø de aproximativ 0,5 μ au o rezistenţă de 20-40 MΩ.Odată cu micşorarea diametrului, rezistenţa creşte,Scăderea bruscă a rezistenţei, indică ruperea microelectrodului.Unul din procedee pentru măsurarea rezistenţei:se introduce vîrful microelectrodului în soluţie KCl 3M şi se uneşte cu o clemă a ohmetrului.Cealaltă clemă a ohmetrului se uneşte cu soluţia.

2.Confecţionarea microelectrozilor metalici.

Destinaţia:pot fi folosite pentru derivarea potenţialelor de acţiune extracelulare sau a potenţialelor sinaptice.Nu pot fi folosiţi pentru înregistrarea diferenţelor constante de potenţial.

Echipament necesar:dispozitiv pentru electroliză,sîrmă oţel inoxidabil sau wolfram Ø 0,15-0,3 mm, HCl-10-20%;izolator,CO_3Na_2 soluţie concentrată,CH_3COOH 1%, alcool,xilol,eter.

Mod de lucru:sîrma de oţel inoxidabil sau wolfram se încălzeşte lent pînă la roşu şi se îndreaptă prin întindere uşoară.Suprafaţa se curăţă uşor cu hîrtie şmirghel şi se taie bucăţi de 5-6 cm lungime.Se degresează sîrma prin introducere în CCl_4.

Prelucrarea electrolitică a electrodului:se fixează electrodul într-un suport ce se deplasează pe verticală(Fig.31),şi se recordează la polul pozitiv al unui acumulator de 6V.Polul negativ al acumulatorului, se uneşte printr-o rezistenţă cu cursor şi un miliampermetru la polul negativ din baia de electroliză(obişnuit electrod de cărbune).Ca mediu de electroliză se utilizează frecvent HCl 10-20%, care se toarnă în vasul în formă de U, peste care se pune un strat de xilol.Vasul în formă de U se poate de asemenea deplasa pe verticală.Procesul solvirii electrolitice a metalului, se urmăreşte la un microscop orizontal.Prin ridicarea şi coborîrea succesivă a vasului şi introducerea elec-

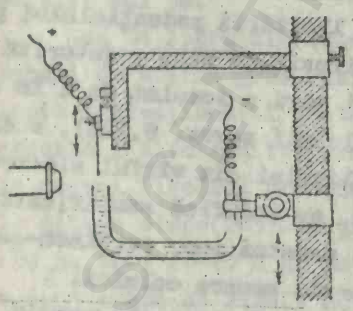


Fig.31.Prelucrarea electrolitică a microelectrozilor.Explicarea în text.

trodului în soluţie, are loc închiderea circuitului şi începerea electrolizei.Deoarece vîrful electrodului intră primul în mediul de electroliză şi tot el iese ultimul, el va fi supus electrolizei un timp mai îndelungat, motiv pentru care sîrma (electrodul) se ascute în cele din urmă sub forma conică.In prima etapă a electrolizei, se trece un curent de 0,03A pe electrod(concomitent pot fi ascuţiţi cîţiva electrozi), iar final se utilizează o intensitate mai redusă.Iniţial electrodul se supune electrolizei un timp mai mare(30-60 sec.), iar imersiunile ulterioare se fac la o adîncime mai mică şi pentru un timp mai scurt.Controlînd la microscop, se continuă electroliza pînă cînd vîrful electrodului ajunge la un diametru de 2-5μ.In general durează aproximativ 2 minute.

Imediat după aceasta, se introduce electrodul succesiv în soluţia concentrată de CO_3Na_2 pentru neutralizarea acidităţii, apoi în CH_3COOH 1%, alcool,eter.Capătul larg al electrodului se acoperă cu cupru, pentru uşurarea racordării la conductori.

Izolarea microelectrozilor:materialul izolator trebuie să îndeplinească următoarele condiţii:să nu mărească Ø vîrfului electrodului;să adere bine de metal;să aibă o rezistenţă ohmică suficient de înaltă;să aibă o suprafaţă netedă şi dreaptă;să nu-şi piardă din calităţi prin utilizarea repetată a microelectrodului; să nu fie toxic pentru ţesut.

Se folosesc în acest scop diferite substanţe:emailuri, lacuri, compuşi de siliciu, derivaţi de polivinil,etc.Folosirea lacului warnisch se face astfel:se introduce microelectrodul pentru 30 sec. în soluţia lichidă de izolator, după care se extrage încet încît să rămînă o peliculă foarte fină de izolator, fără a se forma picături.Se fixează microelectrodul vertical cu vîrful în sus, se usucă la temperatura camerei după care se pune în etuvă la 180°C pentru 2-4 ore.Se repetă de cîteva ori(2-3).Rezistenţa acestei izolări este de ordinul a 2 MΩ.

Se pot folosi şi lacuri, ce nu necesită o prelucrare termică: celuloid solvit în acetonă sau plexiglas solvit în dicloretan sau cloroform.Prin aplicarea acestor lacuri, obişnuit vîrful electrodului rămîne dezizolat.O izolare foarte bună se obţine şi cu ajutorul sticlei.

Verificarea calităţii izolării microelectrodului, se face electrolitic ,racordînd polul negativ al curentului continuu(1,5 V) la electrod, iar anodul-la soluţia fiziologică din cutia Petri,pusă pe un fond negru.Prin închiderea circuitului, apar bule

de gaz din zona dezizolată, care se văd cu ochiul liber.Izolaţia poate fi verificată şi prin deplasarea microelectrodului printr-o peliculă de soluţie fiziologică întinsă în inelul de sîrmă dezizolată(Fig.32).In momentul cînd vîrful microelectrodului atinge pelicula de lichid,se închide circuitul electric,care va fi indicat de instrumentul de măsură.Deplasînd treptat microelectrodul prin pelicula de soluţie, se va observa că la nivelul la care există o zonă dezizolată,acul instrumentului oscilează.

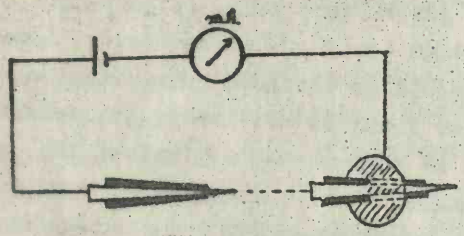


Fig.32.Schema pentru verificarea izolării microelectrozilor.

Intrebări de control:Care este destinaţia microelectrozilor? De ce nu putem folosi microelectrozi metalici pentru derivarea potenţialelor de repaus?

19.POTENŢIALUL DE REPAUS AL FIBREI MUSCULARE STRIATE

Pentru măsurarea potenţialului de membrană, este necesar de a pătrunde în interiorul celulei cu microelectrodul şi folosind un amplificator de curent continuu, să înregistrăm diferenţa de potenţial,care există între interiorul celulei şi ţesuturile înconjurătoare.Existenţa diferenţei de potenţial va fi indicată d saltul potenţialului, care apare în momentul străpungerii membran celulare.Acest salt de potenţial determină o denivelare bruscă a spotului oscilografului de pe linia izoelectrică.Schematic acest lucru se observă în Fig.33(pe ecranul oscilografului catodic) .Fi 34 reprezintă înregistrarea momentului pătrunderii microelectrodului în interiorul fibrei musculare striate.

Echipament necesar:amplificator de curent continuu cu repetitor(repetor) catodic;oscilograf catodic cu amplificator de curent continuu;microelectrozi de sticlă umpluţi cu KCl 3M;micromanipulator;electrod impolarizabil;cameră umedă pentru fixarea preparatului;trusă de disecţie;clorură de tubocurarină 2.10^{-6}M(2 µg/ml); soluţie Ringer;ulei de parafină; broască.

Mod de lucru:se dă drumul amplificatorului de curent, pentru încălzire prealabilă.

Se prepară muşchiul sartorius de broască.Deoarece vîrful

electrodului are o rezistenţă fizică destul de redusă, el se poate rupe uşor prin contracţia muşchiului.De asemenea, contracţia muşchiului cu microelectrodul pătruns într-o fibră a sa,poate leza puternic membrana fibrei,ceea ce ar duce la imposibilitatea înregistrării potenţialului.Deaceea este important de a diminua excitabilitatea muşchiului şi de a fixa bine preparatul în camera umedă.Pentru diminuarea excitabilităţii, se poate scufunda muşchiul într-o soluţie de tubocurarină, care blochează transmiterea excitaţiei la nivelul plăcilor motorii.După curarizare se fixează preparatul pe o măsuţă mică (muşchiul se fixează cu suprafaţa internă în sus, care este relativ mai săracă în ţesut conjunctiv) şi se introduce în camera umedă(Vezi Fig.36),care conţine ulei mineral sau soluţie Ringer.Se fixează electrodul în suportul repetorului catodic(Fig.33) şi se racordează electrolitul, ce umple microelectrodul,printr-un conductor Ag-AgCl la intrarea repetorului catodic.Electrodul impolarizabil indiferent se aşează pe suprafaţa preparatului.

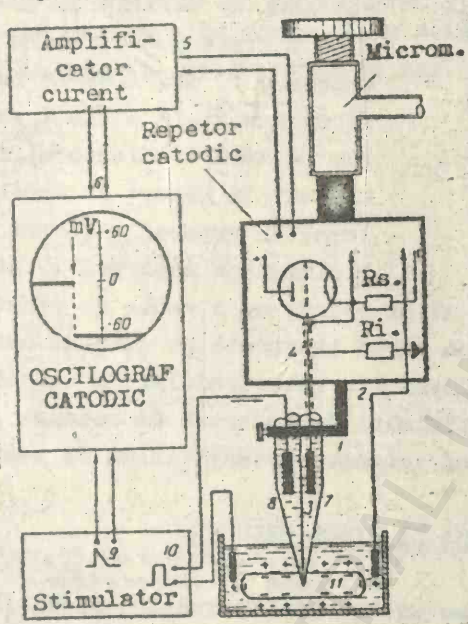


Fig.33.Schema instalaţiei pentru cercetări cu microelectrozi.Microm=micromanipulator Rs=rezistenţă sarcină;Ri=rezistenţă ieşire;11=celula

Se luminează camera umedă pe dedesubt şi se apropie microelectrodul de muşchi pe direcţie perpendiculară.Deplasarea în continuare a microelectrodului se face cu ajutorul micromanipulatorului.Dacă vîrful microelectrodului nu este foarte mic, atunci la locul de pătrundere în muşchi, poate fi văzută o gropiţă. Printr-o deplasare lentă dar scurtă, introducem electrodul în ţesut.Uneori pentru facilitarea străpungerii membranei de către electrod, se aplică o lovitură uşoară în capul micromanipulatorului sau în masă.Momentul străpungerii membranei este însoţit de o deplasare bruscă în jos a spotului oscilografului, nivel la care continuă baleiajul (Fig.34).Revenirea spotului la linia iniţială

indică ieşirea electrodului din celulă sau străpungerea membranei pe partea cealaltă a celulei.Se măsoară înălţimea între nivelul la care se afla spotul pe ecran pînă la pătrunderea microelectrodului în celulă şi nivelul la care s-a deplasat ulterior(Fig.33 pe ecran).Comparînd mărimea acestui interval c semnalul de calibrare, se determină mărimea potenţialului de membrană în mV.Valoarea lui la fibra musculară striată este în jur de -88mV(interiorul fiind negativ în raport cu mediul extern).În general valoarea potenţialului de membrană la muşchi şi nervi, variază între -75 mV şi -95mV, cu o medie de -85mV.

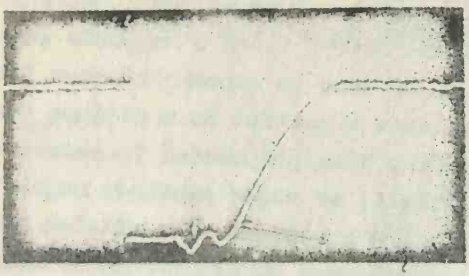


Fig.34.Derivarea intracelulară a potenţialului de repaus.1=momentul pătrunderii microelectrodului în celulă; 2=oscilaţie cauzată de presiunea microelectrodului pe suprafaţa internă a membranei;3=momentul străpungerii membranei şi ieşirii electrodului din celulă.

Recomandări: se va desena curba observată pe ecranul osciloscopului în momentul pătrunderii microelectrodului în celulă şi se va calcula mărimea potenţialului de membrană de repaus.

Intrebări:Cine determină valoarea potenţialului de membrană?

20.POTENTIAL DE ACTIUNE LA NIVEL CELULAR.

Stimularea unei membrane excitabile cu excitanţi subliminali, care nu dau nastere unui potenţial propagat, provoacă modificări de conductibilitate şi de potenţial cu caracter local, reversibil, alcătuind ceea ce se numeşte potenţial local.El apare cu o latenţă de aproximativ 1 msec. şi durează 4-5 msec.Potenţialul local apare pe porţiunea de membrană, care se află în apropierea electrozilor şi reflectă procesul excitării locale.

Potenţialele locale (şi implicit excitaţia locală) se caracterizează printr-o serie de proprietăţi specifice: 1)-nu au o intensitate de prag precisă; 2)-nu se supun legii tot sau nimic; 3)-se răspîndesc pe o zonă neînsemnată şi cu decrement; 4)-în privinţa mecanismului, reprezintă un proces local de depolarizare a membranei celulare.

Potenţialul local apare şi în condiţii naturale de excitare

a sinapselor sub forma potenţialului postsinaptic excitator(EPSP) sau inhibitor(IPSP).Totuşi mecanismul apariţiei potenţialelor locale la nivelul sinapselor şi a potenţialelor locale la nivelul membranei axonului, de exemplu, este diferit şi deaceea nu trebuiesc confundate.

Cînd intensitatea excitantului atinge valoare de prag, apare răspunsul explosiv sub forma unei oscilări de potenţial de amplitudine mare, cu o durată de 1-3 msec., care nu rămîne cantonat în locul apariţiei ci se răspîndeşte de-a lungul întregii membrane. Această oscilare de potenţial a primit denumirea de potenţial de acţiune(Fig.35).Potenţialul de acţiune este legat de apariţia procesului de excitare propagată.Se caracterizează prin aceea că posedă o valoare precisă a pragului de excitare;se supune legii tot sau nimic;se propagă pe toată suprafaţa membranei;amplitudinea lui depăşeşte amplitudinea potenţialului de repaus cu +30 pînă la +50 mV; prin derivare extracelulară, reprezintă oscilaţia negativă a potenţialului.

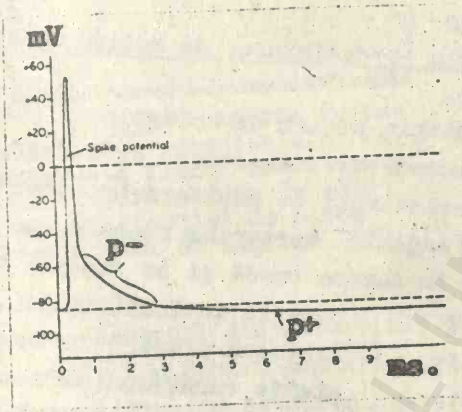


Fig.35.Un potenţial de acţiune. P-=postpotenţial negativ; P+=postpotenţial pozitiv.

Modificarea iniţială de amplitudine mare a potenţialului de acţiune, este denumită potenţialul de vîrf(spike potenţial) şi reflectă procesul de depolarizare a membranei, proces prin care are loc iniţial anularea diferenţei de potenţial de repaus, urmat imediat de polarizarea în sens invers a membranei, prin schimbarea semnului sarcinilor electrice(negativ la exterior şi pozitiv în interior).In fibrele nervoase mari de tip A, spike durează aproximativ 0,4 msec. şi este determinat în deosebi de fluxul de Na^+ din exteriorul membranei spre interior.

După atingerea vîrfului, începe procesul de repolarizare, prin ieşirea ionului de K^+ din celulă spre exterior.Pe Fig.35 se observă că potenţialul de membrană timp de cîteva msec. nu se reîntoarce imediat la nivelul potenţialului de repaus.Acest potenţial este denumit postpotenţial negativ, care ca valoare reprezintă

1-5% din valoare potenţialului de vîrf.Se datoreaza diminuării timp de cîteva milisecunde a fluxului de K^+ spre exteriorul membranei.După atingerea valorii de repaos, un timp devine ceva mai negativ în interior, comparativ cu situaţia de repaus.Acest exces de negativitate este denumit postpotenţial pozitiv.Ca amplitudine reprezintă o fracţiune de mV pînă la cîţiva mV, iar ca durată-50msec-cîteva secunde.Se datorează în deosebi pompării Na^+ din interiorul celulei spre exterior.

Potenţialul de acţiune are semnul negativ pe suprafaţa externă a membranei comparativ cu suprafaţa internă sau cu ţesuturile înconjurătoare.Prin derivare intracelulară,el reprezintă o oscilaţie pozitivă a potenţialului.

1.Derivarea intracelulară a potenţialului de acţiune de la fibra musculară striată.

Echipament necesar: instalaţia pentru cercetări cu microelectrozi;micromanipulator;camera umedă;microelectrozi de sticlă; stimulator;trusă de disecţie; electrozi de excitare;broasca.

Mod de lucru: se prepară muşchiul sartorius împreună cu nervul motor.Se introduce preparatul în camera umedă şi se fixează în poziţia întinsă(Fig.36).Nu se tratează preparatul cu substanţe curarizante.Pentru diminuarea contracţiei musculare, se poate adăuga soluţiei Ringer,sucroză 230mM, care blochează contracţia şi menţine potenţialul.

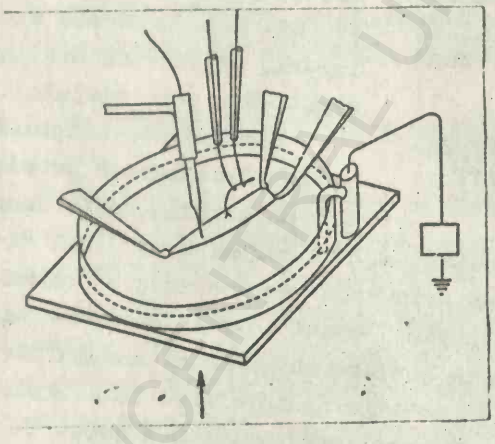


Fig.36.Camera umedă pentru studiul potenţialului de repaos sau de acţiune a fibrei musculare.Săgeata indică direcţia de iluminare.

Fixarea microelectrozilor pe repetitor catodic şi introducerea lui în fibra musculară, se efectuează ca în lucrarea 19.

Se sincronizează osciloscopul cu stimulatorul.Aşezăm nervul motor pe electrozii de excitare, conectaţi la ieşirea din stimulator.Viteza de baleiaj trebuie să fie redusă.Excităm nervul iniţial cu excitanţi unici şi apoi repetitivi.Momentul aplicării excitantului este indicat pe

ecranul oscilografului printr-un artefact de excitare, care sub forma unei deflexiuni verticale mici(Fig.37,a).Mărind intensitatea excitantului, se măreşte şi amplitudinea artefactului cît şi a potenţialului local.La o anumită valoare a intensităţii excitantului, după artefactul de excitare apare o deflexiune mare-potenţialul de acţiune.Pe baza curbelor de calibrare,se determină amplitudinea şi durata potenţialului de acţiune.

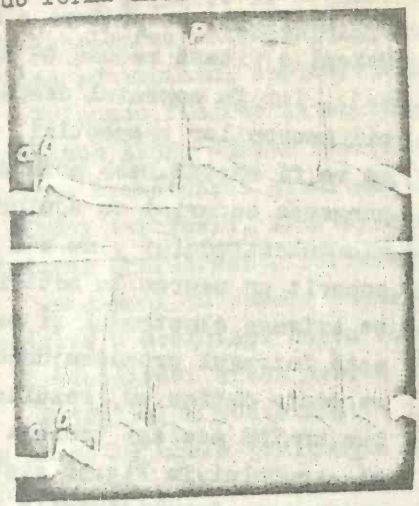


Fig.37.Derivarea intracelulară a potenţialului de acţiune a fibrei musculare striate.a=artefact de excitare;b=potenţial de placă P=potenţial de acţiune.

2.Derivarea extracelulară a potenţialului de acţiune din neuronii corticali.

Potenţialul de acţiune poate fi înregistrat şi prin derivare extracelulară, atunci cînd microelectrodul este dispus în apropierea celulei sau a unui grup redus de celule excitate.Se pot folosi atît microelectrozi din sticlă cît şi metalici cu un diametru de aproximativ 5 μ.Pentru amplificarea potenţialului, se poate folosi un preamplificator de curent alternativ, în care caz electrozii de derivare pot fi conectaţi direct la intrarea amplificatorului, fără repetor catodic.

Echipament necesar:instalaţie pentru cercetări cu microelectrozi sau amplificator de biopotenţiale;oscilograf catodic;stimulator;aparat stereotaxic cu micromanipulator;microelectrozi pentru derivări extracelulare;electrozi de excitare;nembutal;pisică sau şobolan.

Mod de lucru:se anesteziază uşor animalul cu nembutal.Se fixează în aparat stereotaxic şi se descoperă circumvoluţia postcentrală(girus cruciatus posterior)(Vz.lucrarea 40).Se descoperă nervul sciatic la nivelul membrului posterior simetric,pe care-l aplicăm pe elctrozi de stimulare.Se apropie electrodul de suprafaţa scoarţei cu ajutorul cremalierei de deplasări macrometrice pe verticală, după care se deplasează micrometric.In tot acest interval, stimulatorul generează impulsuri supraliminale cu o frecvenţă

de 0,5-1Hz, iar osciloqraful lucrează în regim intern de lucru.

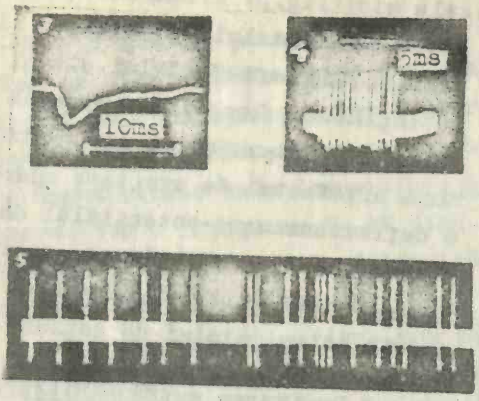


Fig.38.Potenţial postsinaptic inhibitor(3);4 şi 5-derivare extracelulară a descărcărilor ritmice a neuronilor corticali.

În perioada"căutării" neuronilor excitaţi, se preferă a se folosi o viteză redusă de baleiaj , iar în momentul descoperirii neuronilor respectivi, viteza va fi mărită.Dacă prin străpungerea scoarţei cu ajutorul microelectrodului , nu s-a descoperit un neuron în activitate se extrage electrodul şi se repetă întregul procedeu;uneori se poate obţine un rezultat bun,urmînd acelaşi traiect al electrodului.În Fig.38 sînt reprezentate înregistrările activităţii neuronilor corticali la o desfăşurare mai lentă(4) sau mai rapidă(5).

Recomandări:se va desena schema instalaţiei folosite.Se vor caracteriza fenomenele observate.

Întrebări de control:Cum apare potenţialul de acţiune?

21.MECANISMUL TRANSMITERII SINAPTICE. POTENŢIALUL POSTSINAPTIC EXCITATOR ŞI INHIBITOR.

Transmiterea procesului de excitaţie de pe axonul unei celule nervoase, pe altă celulă nervoasă, sau de pe fibra nervoasă pe fibra musculară, are loc la nivelul sinapselor.Cînd un buton presinaptic,sub influenţa potenţialului de acţiune, eliberează în spaţiul subsinaptic o cantitate de mediator chimic excitator, membrana neuronului devine timp de aproximativ 1 msec. intens permeabilă pentru ionul de Na şi K.În acest interval de timp, o cantitate de Na pătrunde în interiorul celulei, neutralizînd o parte din potenţialul de repaus;deci, potenţialul din interiorul celulei, devine mai puţin negativ.Această modificare în potenţialul de repaus, poartă denumirea de potenţial postsinaptic excitator(EPSP), iar la nivelul fibrei musculare-potenţial de placă terminală.În motoneuroni el persistă timp de 15 msec şi are o perioadă de înjumătăţire de 4 msec.Pentru ca EPSP să dea naştere potenţialului de acţiune, el trebuie să atingă o valoare de prag, care pentru motoneuroni

este de aproximativ 11 mV(modifică potenţialul de repaus de la -70 mV,valoarea potenţialului de repaus, la -59 mV, care va determina potenţialul explosiv)(Fig.37,b).

Prin modificarea intensităţii excitantului, se modifică şi amplitudinea EPSP, durata rămînînd aceeaşi.Astfel cînd un neuron este supus bombardării simultane din partea unui număr tot mai mare de butoni terminali, EPSP care apare, reprezintă suma aritmetică a tuturor EPSP.Aceasta reflectă procesul de sumare spaţială.

Fenomenul de sumare poate apare şi în urma descărcării rapide succesive a aceluiaşi buton terminal, durata fiecărui EPSP fiind de 15 msec.Acest efect poartă denumirea de sumare temporară.

Potenţialul postsinaptic inhibitor (IPSP), rezultă din secreţia de către unele terminaţii presinaptice, a unui mediator chimic inhibitor.Se pare că mediatorul inhibitor, determină o creştere a permeabilităţii membranei pentru ionul de K şi Cl, dar nu pentru Na^+.Datorită concentraţiei mărite în interiorul celulei, ionul de K pătrunde rapid spre exteriorul celulei, determinînd o hiperpolarizare a membranei (în celulele nervoase de la -70mV în repaus la -80mV, deci cu 10 mV mai negativ în interior).Acest potenţial poartă denumirea de IPSP, care durează tot 15 msec ca şi EPSP. IPSP reprezintă de asemenea un potenţial local gradat (Fig.38,3).

Potenţialul de placă terminală este analog cu EPSP.Obişnuit fiecare impuls nervos, care ajunge la nivelul joncţiunii neuromusculare, creiază un potenţial de placă de 3-4 ori mai mare, decît cel necesar pentru apariţia potenţialului de acţiune.Unele substanţe, cum este curara, inhibă trecerea impulsului de la nivelul plăcii terminale în muşchi.Curara afectează membrana în aşa fel încît acetilcolina nu poate mări suficient permeabilitatea membranei, care să iniţieze o undă de depolarizare.Cu alte cuvinte potenţialul de placă nu atinge valoarea de prag.Acţiunea curarei se pare că se exercită prin blocarea substanţei receptoare a acetilcolinei de la nivelul plăcii terminale,substanţă care este necesară pentru ca acetilcolina să-şi poată exercita efectul asupra membranei.

In cele ce urmează se va descrie tehnica de înregistrare şi de studiu a unor proprietăţi ale potenţialelor postsinaptice la nivelul plăcii motorii a fibrelor musculare striate la broască.

Echipament necesar:instalaţia pentru cercetări cu microelectrozi;micromanipulator;cameră umedă;microelectrozi de sticlă;

lupă binoculară;trusă de disecţie;broască.

Mod de lucru:Se pregăteşte muşchiul sartorius de broască,cu nervul său motor.Se fixează muşchiul în extensie şi se aşează în camera umedă(Fig.36).Cu ajutorul microscopului binocular(10X sau 20X), focalizat pe suprafaţa muşchiului, se observă răspîndirea ramificaţiilor nervoase.

Aranjarea aparatelor, fixarea microelectrodului şi introducerea lui în fibra musculară, se face ca în lucrarea 19.După introducerea electrodului în fibra musculară în apropierea plăcilor motorii, se aranjează oscilograful în poziţia de lucru(viteza de baleiaj=1 msec/cm).Se sincronizează stimulatorul cu oscilograful. Aranjăm nervul motor pe electrozi de excitare, pe care îi conectăm cu stimulatorul.Se aplică excitanţi unici, se modifică amplitudinea impulsului şi se observă pe ecranul oscilografului, apariţia potenţialului.Dacă prin aplicarea excitantului, apare pe oscilograf potenţialul de acţiune, atunci se micşorează intensitatea excitantului, încît după excitant să apară numai potenţialul de placă terminală(Vz.Fig.37b).

Atunci cînd potenţialul de placă nu este prea evident,în timp ce potenţialul de acţiune se înregistrează bine, trebuie să modificăm localizarea microelectrodului, deplasîndu-l într-o zonă vecină sau la o adîncime mai mare.Obişnuit EPSP nu se înregistrează bine, atunci cînd microelectrodul pătrunde într-o zonă depărtată de placa motorie.Amplitudinea lui maximă se înregistrează în regiunea plăcii motorii.

Folosind curbele de etalonare, se determină pragul amplitudinii potenţialului de placă, care generează potenţialul autopropagat cît şi durata potenţialului local.

In vederea înregistrării potenţialului de placă,se poate trata în prealabil fibra musculară cu clorură de tubocurarină(1 µg/ml) solvită în soluţie Ringer.Cînd concentraţia tubocurarinei este suficientă, muşchiul nu se contractă, în schimb potenţialul de placă,care obişnuit nu este urmat de potenţialul de acţiune, poate fi înregistrat din apropierea plăcilor motorii.Pentru observarea potenţialului de placă, trebuie mărită sensibilitatea amplificatorului de deflexie pe verticală.

Recomandări:se va desena schema instalaţiei şi forma potenţialelor observate.Se va explica mecanismul fenomenelor observate.

Intrebări:Ce mediatori chimici excitatori şi inhibitori sînt?

22. ELECTROMIOGRAFIA.

Electromiografia reprezintă totalitatea procedeelor de studiu al activităţii electrice a muşchiului în cursul contracţiei reflexe sau voluntare la om şi animale. Electromiografia se practică obişnuit în cursul contracţiei izometrice, dar poate fi folosită şi contracţia izotonică. Inregistrarea grafică a activităţii electrice a muşchiului, poartă denumirea de electromiogramă (EMG).

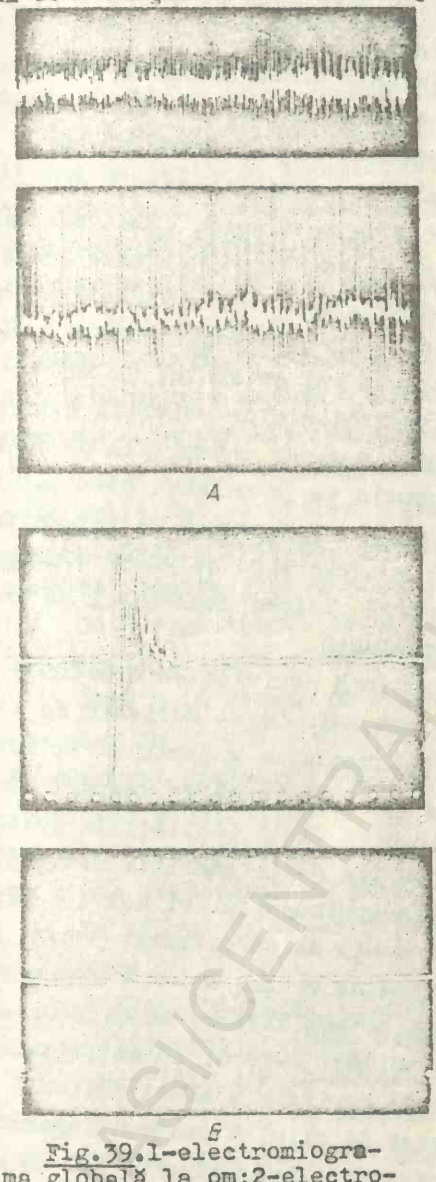


Fig.39. 1-electromiograma globală la om; 2-electromiograma elementară a m.biceps. La 2-amplificarea şi desfăşurarea, sînt de 2 ori mai mari. Amplitudinile mai mari sînt de la unităţi mai apropiate de placa motorie. B=EMG muşchiului după excitarea unică a nervului sciatic(1) şi după curarizare(2). Timp-10 msec.

Derivarea biopotenţialelor se poate face cu electrozi de suprafaţă (electromiograma globală), sau electrozi implantaţi în muşchi (electromiografia elementară). Electromiografia elementară înregistrează potenţialele de acţiune ale unităţilor motoare (în cazul unităţilor mari, cel puţin a pachetelor fibrelor musculare). Inregistrarea se efectuează cu ajutorul electrozilor coaxiali bipolari ale lui Adrian şi Bronk(1929) (un ac de seringă, prin lumenul căruia trec pînă la vîrf două sîrme foarte fine, izolate cu lac între ele. Dezizolate sînt numai vîrfurile firelor. Peretele acului serveşte la fixarea electrozilor şi la ecranarea lor). Electrodul sterilizat în prealabil, este introdus în muşchiul studiat. Distanţa dintre electrozi fiind de cîţiva microni, aceştia culeg diferenţele de potenţial care apar într-o zonă foarte redusă, adică în grupe de fibre ce compun o unitate

motorie sau un pachet al unei unităţi motorii.Capetele exterioare ale electrozilor, sînt racordate la intrările în amplificatorul electromiografului.Potenţialele amplificate apar pe ecranul osciloscopului şi pot fi înregistrate,alcătuind EMG.

Muşchiul în repaus nu are activitate electrică.Intr-o contracţie voluntară slabă, apar numai potenţiale de acţiune ale unei singure unităţi motorii.Traseul respectiv poartă denumirea de traseu simplu.Amplitudinea potenţialului unităţii motorii este de 300-500 µV.Durata potenţialului este de 4-16 msec, fiind mai mare dacă unitatea este alcătuită din mai multe fibre(9-16 msec la m. deltoid) şi mai mică în caz contrar(4-7,5msec. la m. faciali).Forma potenţialului este di- şi polifazică, iar frecvenţa de 4-12 c/s.

Pe măsură ce muşchiul se contractă mai puternic, pe EMG se observă o creştere a frecvenţei biopotenţialelor unităţii motorii în activitate, dat totodată şi apariţia altor potenţiale de acţiune mai puţin ample, din cauză că provin de la unităţi ceva mai îndepărtate de vîrful acului.In contracţia izometrică de intensitate medie, se înregistrează descărcări cu frecvenţă de 20-30 c/s-traseu intermediar- iar contracţia maximă produce descărcări cu frecvenţă de 20-50 c/s-traseu de interferenţă.

Electromiografia globală reprezintă activitatea electrică globală a unei contracţii reflexe sau voluntare, derivată cu ajutorul a 2 electrozi cutanaţi situaţi deasupra muşchiului în activitate.In contracţie slabă traseul apare sub formă de variaţii de potenţial de amplitudine redusă şi neregulată.Oscilaţiile devin mai ample şi mai regulate în contracţia de intensitate medie şi maximală, avînd alura unui ritm pseudosinusoidal(ritmul lui Piper), format din oscilaţii ample cu frecvenţă de aproximativ 50c/s, pe care se suprapun croşete de amplitudine redusă avînd o frecvenţă de 200-500 c/s.Asupra amplitudinii potenţialelor, ce alcătuiesc EMG globală, intervin numărul de unităţi motorii în activitate, impedanţa ţesutului şi suprafaţa de derivare a electrozilor.

Electromiografia se utilizează în clinică pentru diagnosticul afecţiunilor neuro-musculare.Deseori se înregistrează EMG în urma excitării subtegumentare a nervilor.Aceasta permite diagnosticarea şi diferenţierea afecţiunilor de tipul fasciculaţiei (contracţia spontană a fasciculelor musculare) de tipul fibrilaţiei(contracţia spontană a fibrelor musculare izolate).Cu ajutorul acestei metode pe baza gradului de sincronizare a potenţialului de acţiune

se poate diferenţia atrofia neurogenă ca urmare a leziunii nervului, de atrofia cauzată de leziunea motoneuronilor.

Amplitudinea descărcărilor poate da indicaţii cu privire la afectarea transmiterii neuro-musculare.

1.Electromiografia globală la om:

Echipament necesar:electromiograf;greutăţi de 1,3,5Kg; electrozi de piele(2x2mm);pastă de electrozi;alcool;vată;leucoplast.

Mod de lucru: pentru înregistrare, se preferă la om muşchiul biceps.Se tratează tegumentul deasupra muşchiului cu alcool 96% iar apoi cu o pastă specială pentru micşorarea rezistenţei dintre electrozi.Electrozii înveliţi în tifon, se îmbibă cu soluţie salină 20%, se fixează cu leucoplast deasupra muşchiului şi se măsoară rezistenţa dintre electrozi.De regulă ea nu trebuie să depăşească 40-50 KΩ.Se fixează amplificarea aparatului în aşa fel încît la o contracţie maximă a muşchiului(ridicînd o greutate de 5 Kg), mărimea potenţialelor să nu depăşească zona de lucru a ecranului. Se înregistrează semnalul de calibrare a amplificării.Subiectul este solicitat să ridice o greutate de 1 sau 3 kg.Se observă pe ecranul oscilografului, descărcări de biopotenţiale, care apar în momentul contracţiei muşchiului.

Se înregistrează potenţialul la începutul travaliului, după 2-3 minute şi după obosirea muşchiului.

După 5-10 minute de odihnă, se repetă înregistrarea biopotenţialelor în timpul ridicării unei greutăţi mai mari(3 sau 5 kg). De observat creşterea amplitudinii şi frecvenţei biopotenţialelor în timpul mişcării.Forţa de contracţie se evidenţiază bine în contracţia izometrică pentru obţinerea căreia, experimentatorul se va opune deplasării pîrghiei osoase acţionate de muşchiul explorat.

La sfîrşitul experienţei se înregistrează din nou semnalul de calibrare şi timpul.

2.Electromiografia elementară la om:

Echipament necesar: acelaşi ca la punctul 1 şi în plus electrozi coaxiali Adrian-Bronk.

Mod de lucru: se sterilizează electrodul şi se dezinfectează regiunea de explorat.Se introduce electrodul în masa musculară, urmărind pe ecranul electromiografului apariţia unor slabe descărcări, produse în unităţile motorii pe care acul le străbate.Se invită subiectul să contracte muşchiul explorat.Contracţia poate fi izotonică, dar se preferă investigarea în contracţie izometrică progresivă,experimentatorul opunîndu-se mişcării pîrghiei osoase

acţionate de muşchiul respectiv.

In repaus, după o perioadă de adaptare a muşchiului la înţeparea cu electrodul coaxial, nu apar modificări electrice, dacă unitatea motorie este normală.

In contracţie slabă se observă un traseu simplu (4-12 c/s); în contracţie medie se înregistrează descărcări cu frecvenţa de 20-30 c/s-traseu intermediar, iar în contracţie maximală se observă descărcări cu frecvenţa de 20-50 c/s-traseu de interferenţă. De observat modificarea în paralel şi a amplitudinii(Fig.39).

3.Inregistrarea electromiogramei la animale în experiment acut.

Echipament necesar: electromiograf;electrozi coaxiali;stimulator;electrozi pentru excitarea nervului;trusă de instrumente; pisică sau şobolan.

Mod de lucru:animalul anesteziat se fixează pe masa de operaţie.Se secţionează tegumentul pe suprafaţa internă a coapsei şi se izolează n.sciatic.Capătul central al nervului se secţionează şi se aplică pe electrozi.Se excită nervul cu o frecvenţă de 0,5-1 Hz (durata impulsului-0,5-1msec),şi intensitate care să determine o contracţie evidentă.Se introduce electrodul în muşchi şi se înregistrează biopotenţialele, care apar prin excitatea nervului.

Se lezează nervul mai jos de electrozii de excitare şi se observă dispariţia biopotenţialelor musculare.

Se poate injecta intravenos o substanţă curarizantă, după trecerea prealabilă a animalului la respiraţia artificială şi se va observa blocarea transmiterii excitaţiei(Fig.39 B2)

Recomandări:se va desena schema instalaţiei pentru derivarea biopotenţialelor musculare.Se va întocmi protocolul experienţei.

Intrebări: Ce se înţelege prin electromiogramă globală şi elementară?Cum se explică creşterea frecvenţei şi amplitudinii biopotenţialelor musculare în timpul unui travaliu intens? De ce trebuie trecut în prealabil animalul la respiraţia artificială, înainte de a injecta substanţa curarizantă?

23. VITEZA DE TRANSMITERE A INFLUXULUI NERVOS PRIN NERV

La nivelul nervului, potenţialul de acţiune apare în zona de aplicare a excitantului. Odată apărut, potenţialul de acţiune se răspîndeşte cu o anumită viteză în tot lungul nervului prin curenţi locali descrişi de Hermann (fibre amielinice) sau în mod saltator (fibre mielinice).

Viteza de transmitere a impulsului nervos, depinde de diametrul fibrei nervoase. In general la fibrele mielinice, diametrul în microni înmulţit cu 6 ne dă viteza în m/sec.

Viteza depinde de faptul dacă fibra nervoasă este mielinică sau amielinică. De ce?

Viteza mai depinde şi de animal (mult mai mare la homeoterme decît la poikiloterme pe axoni de acelaşi tip şi cu aceeaşi grosime).

Un nerv periferic mixt conţine mai multe grupe de fibre, care după grosime se împart în următoarele tipuri: A alfa, beta, gama şi delta, B şi C. Caracteristicile şi vitezele de conducere pentru diferite categorii de fibre sînt redate în tabelul de mai jos.

CARACTERISTICILE VITEZEI DE CONDUCERE A FIBRELOR NERVOASE

Tipuri de fibre	Diametrul fibrei μ	Grosimea	Viteza de conducere m/s		Funcţia
			Poikiloterme (20°C)	Homeoterme (37° C)	
A alfa	10–20	groase	20–40	60–120	fibre motorii şi aferente ale fusului muscular
beta	7–15	subţiri	15–30	40–90	fibre de la receptorii tactili cutanaţi
gama	4–8	subţiri	8–15	30–45	fibre eferente intrafusale musculare.
delta	2,5–5	subţiri	5–9	15–25	fibre de la receptorii termici şi dureroşi cutanaţi
B	1–3	mai subţiri	2–6	3–5	fibre preganglionare vegetative
C	0,3–1,5	f. subţiri	0,3–0,8	0,5–2	fibre postganglionare simpatice

(după Keidel)

Viteza de transmitere a impulsului nervos depinde într-o mare măsură de starea funcţională a nervului. Odată cu intensificarea proceselor metabolice din nerv, are loc o creştere a conductibilităţii. In condiţii neprielnice (oboseala, răcirea, narcoza) conductibilitatea diminuează. La mamifere blocarea reversibilă a conduc-

BCU IASI / CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

tibilităţii şi excitabilităţii, se produce sub 15°C pînă la 5°C. La poikiloterme temperatura minimă este de +2-3°C.

Viteza de transmitere a influxului nervos prin nerv, se modifică în perioada dezvoltării postembrionare(10 m/sec la pui de pisică de 4 zile şi respectiv 60 m/sec la 78 zile) şi coincide cu mărirea diametrului fibrelor nervoase.

Viteza de transmitere a influxului nervos a fost măsurată pentru prima dată de către Helmholtz (1850) prin metoda galvanometrică şi ulterior miografică.Metoda miografică se bazează pe înregistrarea perioadelor latente a două contracţii succesive, obţinute în urma excitării nervului motor în porţiunea distală (B Fig. 40) şi respectiv proximală(A Fig.40).Diferenţa dintre perioadele latente a celor două contracţii(t), este determinată de timpul necesar influxului nervos pentru a parcurge spaţiul dintre punctele A şi B.Cunoscînd această distanţă (S) şi timpul necesar parcurgerii (t), se află viteza: V=S/t.Se exprimă în metri pe secundă. Prin suprapunerea contracţiilor, apare mai evident diferenţa dintre perioadele latente.

Metodele actuale de măsurare a vitezei influxului nervos, se bazează pe determinarea oscilografică a perioadelor latente a potenţialului de acţiune.

Echipament necesar: kimograf cu viteză mare;roata dinţată întrerupător;semnal electromagnetic;miograf;bobina de inducţie;cheia Pohl;2 excitatoare;întrerupător cu mercur;diapazon electric;sursă de curent;trusă de disecţie;soluţie fiziologică;broască.

Mod de lucru:se montează circuitul de excitare, folosit la înregistrarea perioadei latente, cu deosebirea că în circuitul primar se montează o roată dinţată întrerupătoare, care se cuplează la roata dinţată cu acelaşi număr de dinţi de pe kimograf, iar în circuitul secundar se introduce cheia Pohl, care va permite comutarea succesivă a curentului spre excitatorul distal şi respectiv proximal(Fig.41).Timpul se înregistrează cu ajutorul diapazonului electric, folosind schema cunoscută.

Se lucrează pe preparatul sciatic-gastrocnemian de broască. După racordarea muşchiului la miograf, se aplică un excitator mai aproape de muşchi, iar al doilea -la o distanţă de cel puţin 5 cm faţă de primul excitator.Se măsoară distanţa dintre excitatori(S).

Se alege o intensitate a excitantului, care să dea contrac-

ţii maximale la excitarea prin ambii excitatori, iar curentul indus la închidere să fie sub prag.După aranjarea peniţelor înscriitoare la acelaşi nivel de plecare, se porneşte kimograful şi cu o mînă manipulăm întrerupătorul (I) circuitului de excitare, iar cu cealaltă-cheia Pohl. Inchidem circuitul şi după ce se înregistrează o contracţie, dată de excitarea nervului în punctul distal, comutăm curentul cu cheia Pohl la excitatorul proximal, înregistrăm cea de a doua contracţie, după care întrerupem circuitul de excitare.Inscriem timpul cu ajutorul diapazonului electric.

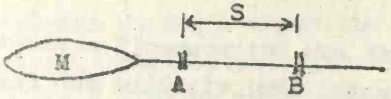


Fig.40.Aranjarea electrozilor în poziţia proximală(A) şi distală(B).

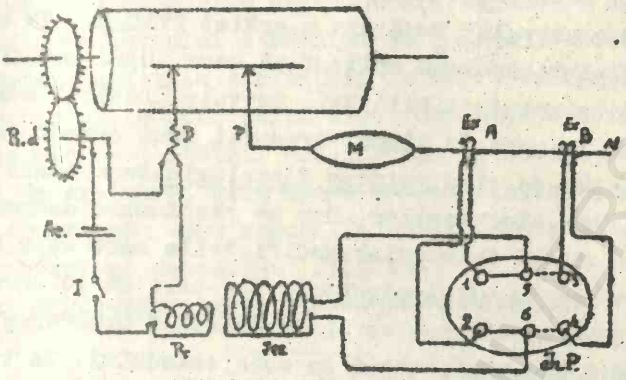


Fig.41.Aranjarea aparatelor pentru înregistrarea vitezei de transmitere a impulsului nervos.Ch.P=cheia Pohl.

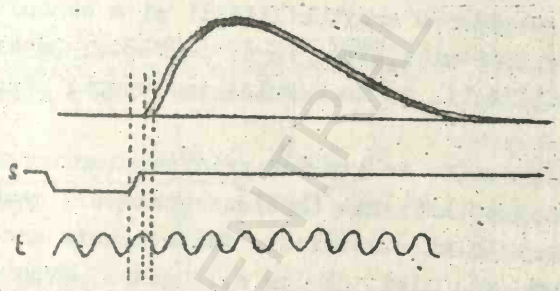


Fig.42. Inregistrarea grafică a diferenţei dintre cele două perioade latente, în vederea calculării vitezei de conducere a impulsului nervos.

Recomandări: se va delimita perioada latentă a celor două contracţii şi se va calcula diferenţa dintre ele(t)(Fig.42).Se va nota distanţa dintre excitatori(S).De calculat viteza influxului nervos în m/sec.

Intrebări de control:Care este mecanismul conducerii excitaţiei?Care este viteza de conducere a excitaţiei şi care sînt factorii, care o influenţează?

24.ELECTROTONUSUL FIZIOLOGIC.

In momentul închiderii sau întreruperii circuitului electric la nivelul nervului apar modificări vizibile sub forma potenţialului de acţiune.Dacă curentul continuu circulă un timp mai îndelungat prin nerv, el nu cauzează modificări vizibile ale procesului de excitaţie.Totuşi curentul continuu provoacă variaţii mari în starea funcţională a nervului.După cum a arătat Pflüger, în apropierea polilor curentului continuu aplicat pe nerv, apar modificări ale excitabilităţii şi conductibilităţii nervului.Acestui complex de fenomene,ce apar în nerv în timpul trecerii unui curent continuu, s-a dat denumirea de electrotonus fiziologic.Fenomenele electrotonice apar în zona electrozilor, dar se răspîndesc decremential atît extrapolar cît şi intrapolar.Modificările care apar la catod poartă denumirea de catelectrotonus,iar cele de la anod-anelectrotonus.Catelectrotonusul se caracterizează prin creşterea excitabilităţii şi conductibilităţii în zona catodului, în timpul închiderii circuitului electric continuu; la întreruperea circuitului electric are loc o scădere a excitabilităţii şi o diminuare a conductibilităţii nervului.Anelectrotonusul se caracterizează prin fenomene inverse:scăderea excitabilităţii şi a conductibilităţii la închiderea circuitului electric şi o creştere a excitabilităţii şi conductibilităţii, în momentul întreruperii circuitului electric.

Fenomenele electrotonice se explică prin depolarizarea (catelectrotonusul) sau hiperpolarizarea (anelectrotonusul) membranelor în timpul trecerii curentului electric.In felul acesta excitarea nervului în apropierea catodului, devine mai uşoară, datorită diminuării potenţialului de membrană; în zona anodului are loc o creştere a potenţialului de membrană, ceea ce necesită un curent mai puternic pentru a reduce valoarea potenţialului de repaus la valoarea critică, care să genereze potenţialul de acţiune.

Modificarea conductibilităţii în acelaşi sens cu excitabilitatea, se explică prin aceea că ambele proprietăţi au la bază un mecanism comun, acela de depolarizare a membranei.

Modificările excitabilităţii şi conductibilităţii, descrise mai sus,sub influenţa curentului electric continuu, nu se observă în toate condiţiile experimentale.Dacă acţiunea curentului este de foarte lungă durată, sau de intensitate mare,atunci excitabilita-

tea crescută de la catod, scade rapid la nivelul de plecare, după care diminuează pînă la dispariţia completă (depresiunea catodică Verigo).In aceleaşi condiţii experimentale, modificări în sens invers suferă şi excitabilitatea segmentului anodic al nervului-după diminuarea iniţială, revine la nivelul de plecare.

Fenomenele electrotonice pot fi demonstrate prin metode miografice, comparînd valorile de prag ale excitanţilor pentru nervul normal, cu pragurile obţinute din segmentul catodic şi segmentul anodic al nervului străbătut de curentul electrotonizant(continuu). Deoarece apariţia excitaţiei în nerv o evidenţiem prin contracţia muşchiului, aducem polul electrodului,sub care analizăm modificările excitabilităţii, mai aproape de muşchi;în felul acesta, procesul de excitare, care apare sub excitator, nu are nici o piedică în drumul său spre muşchi.In acest scop vom lucra pe rînd în curent ascendent şi descendent (Fig.43).

Echipament necesar:kimograf;electrozi impolarizabili;excitator; bobină de inducţie;întrerupător; cheia Pohl;sursă de curent;trusă de disecţie;miograf,broasca.

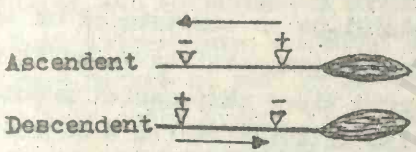


Fig.43.Aranjarea electrozilor pentru curent electrotonizant ascendent sau descendent.

Mod de lucru:aranjăm circuitul electric pentru determinarea pragului de excitare.Pentru curentul electrotonizant, aparatele se aranjează ca în Fig.44.Cheia Pohl va servi ca inversor al sensului curentului, motiv pentru care se păstrează barele de legătură ale bornelor laterale.Bornele de la acumulator se racordează la bornele centrale ale cheii Pohl iar de la o pereche de borne laterale, ducem curentul la electrozii impolarizabili. Schimbînd comutatorul cheii Pohl de la o pereche de borne laterale la cealaltă,schimbăm sensul curentului electrotonizant.

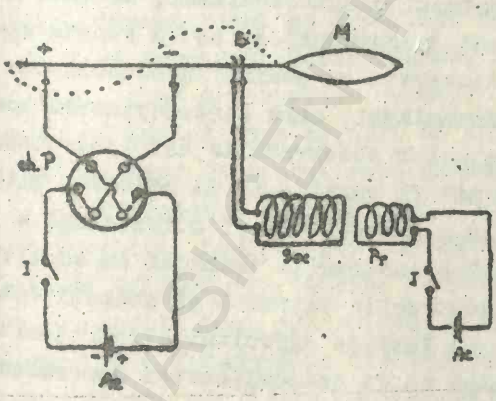


Fig.44.Instalarea aparatelor pentru cercetarea electrotonusului în curent descendent.

Se pregăteşte preparatul sciatic-gastrocnemian de broască.

Legăm m.gastrocnemian de peniţa miografului şi aplicăm pe nerv cei 2 electrozi impolarizabili la distanţă unul de altul (De ce?) In apropierea electrodului impolarizabil proximal, punem nervul pe excitatorul circuitului de determinare a pragului.

Determinăm iniţial pragul de excitare la curent indus şi înregistrăm contracţia de prag(Vz. lucrarea 7).Pentru simplificare, înregistrarea poate fi înlocuită cu observarea vizuală a gradului de contracţie a muşchiului.După ce s-a determinat pragul, închidem circuitul electrotonizant şi măsurăm din nou excitabilitatea aceluiaşi segment de nerv.Dacă în apropierea excitatorului se află catodul, excitabilitatea nervului va fi mărită(contracţia muşchiului va fi mai mare la aceeaşi intensitate a excitantului) şi pentru a obţine numai contracţia de prag, va trebui să depărtăm bobinele între ele.De notat valoarea noului prag.

Aducem bobina secundară la valoarea pragului iniţial (nerv normal) după care întrerupem curentul electrotonizant şi determinăm valoarea pragului în zona catodului.Se va constata că un scurt interval de timp de la întrerupere, excitabilitatea va fi diminuată, ceea ce se exteriorizează prin lipsa răspunsului muşchiului la intensitatea de prag stabilită anterior.Pentru a obţine contracţie de prag, este nevoie de a mări intensitatea curentului indus. După un timp de la întreruperea curentului electrotonizant, excitabilitatea nervului revine.Se va verifica.

Se va schimba sensul curentului electrotonizant, aducînd anodul mai aproape de muşchi(curent ascendent) şi se va repeta experienţa ca mai sus.Efectele observate cu ocazia închiderii sau întreruperii curentului electrotonizant, care caracterizează anelectrotonusul, vor fi inverse celor observate la catelectrotonus.

Fenomenele electrotonice pot fi verificate şi printr-o altă variantă experimentală:se alege o intensitate şi o frecvenţă a curentului indus, care provoacă o contracţie tetanică cu amplitudine redusă.Se înregistrează contracţia tetanică şi concomitent (fără întreruperea excitării) se închide circuitul electrotonizant. Dacă în apropierea excitatorului va fi catodul(curent descendent), se va observa o creştere evidentă a contracţiilor musculare.După întreruperea circuitului electrotonizant, se va observa o curbă descendentă a tetanosului, după care forţa de contracţie revine treptat.Schimbînd sensul curentului electrotonizant(ascendent),se va repeta experienţa.

Recomandări: pe graficele obţinute, se vor nota valorile pragurilor de excitare a nervului şi tipul de electrotonus.Pe baza rezultatelor obţinute din ambele variante experimentale,se vor trage concluziile corespunzătoare.

Intrebări:Ce se înţelege prin electrotonus? Pot fi întîlnite în organism, în condiţii naturale, fenomene electrotonice? Explicaţi mecanismul apariţiei cat- şi anelectrotonusului de pe poziţia teoriei membranei a excitaţiei.

25.LEGILE CONTRACTIEI ALE LUI PFLÜGER

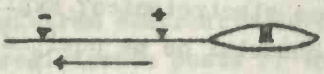
Aceste legi stabilesc modul de răspuns al muşchiului în urma acţiunii curentului continuu asupra nervului său motor.Reacţia muşchiului depinde de intensitatea curentului,(slab, medie sau puternică), sensul curentului (ascendent sau descendent) cît şi de închiderea sau întreruperea circuitului polarizant(continuu).

După intensitate, curentul se divide convenţional în 3 categorii, care diferă nu atît prin valoarea absolută, cît după importanţa sa fiziologică.Curent slab este considerat un curent de prag, care generează pentru prima dată un efect contractil minim;curent mediu este un curent ceva mai puternic, iar curent puternic(sau forte)-un curent ce determină modificări electrotonice profunde, ce duc la dispariţia conductibilităţii (secţiune fiziologică).

Convenţional se deosebesc două sensuri ale curentului:descendent şi ascendent.Curent descendent este considerat sensul curentului, cînd mai aproape de muşchi se află catodul, curentul ca şi cum ar coborî spre muşchi(de la plus la minus).In curent ascendent mai aproape de muşchi este plasat anodul.

Dependenţa rezultatului excitării de intensitate şi sens a curentului, îşi găseşte expresia în legile contracţiilor, stabilite de Pflüger (vz.tabelul pe verso).

Aceste legi se explică pe baza legii excitaţiei unipolare(Pflüger) şi a fenomenelor electrotonice.Legea excitaţiei unipolare stabileşte că: 1)-la închiderea curentului continuu,excitaţia apare totdeauna la catod; 2)-la întreruperea circuitului continuu, excitaţia apare în zona polului pozitiv(anod); 3)-pentru aceeaşi intensitate de curent, acţiunea excitantă la închidere(catod) este mai puternică decît la deschidere(anod).

Sensul curentului	Intensitatea	Închidere	Deschidere
Curent ascendent 	slabă		
	medie		
	puternică		
Curent descendent	slabă		
	medie		
	puternică		

Conform legii contracţiei, un curent slab, atît ascendent cît şi descendent, determină contracţia musculară numai la închiderea circuitului.Aceasta se explică prin aceea că catelectrotonusul de închidere, este din punct de vedere fiziologic mai puternic decît anelectrotonusul de deschidere.Prin urmare, la un curent slab, unui catelectrotonus de prag îi corespunde un anelectrotonus subliminal.

Odată cu mărirea intensităţii curentului, are loc o accentuare a fenomenelor electrotonice:anelectrotonusul atinge mărimi de prag şi supraliminale, fiind cauza apariţiei efectului contractil şi la întreruperea curentului continuu.

Prin folosirea curenţilor puternici , un rol deosebit în apariţia efectelor contractile, joacă modificările excitabilităţii şi a conductibilităţii în nerv.Astfel la curenţi descendenţi foarte puternici, se obţine răspuns numai la închidere, deoarece la deschidere, impulsurile apărute la anod, sînt blocate de depresiunea catelectrotonică din apropierea muşchiului.Cu curenţi ascendenţi puternici, excitarea muşchiului are loc numai la deschidere, deoarece la închidere impulsurile sînt oprite de depresiunea anelectrotonică în apropiere de muşchi.

Echipament necesar:sursă de curent continuu;reostat cu cursor;cheie Pohl;electrozi impolarizabili;întrerupător; trusă de disecţie;soluţie fiziologică;broască.

[illegible] de lucru [illegible]ntează circuitul electric pentru excitare

cu curent galvanic(curent continuu)(Fig.45).Pregătim electrozi impolarizabili.Se pregăteşte preparatul sciatic-gastrocnemian. Se pune nervul sciatic într-o cameră umedă,sau pe lamă de microscop cu ser fiziologic, peste care se aplică electrozi impolarizabili la distanţă unul de celălalt.

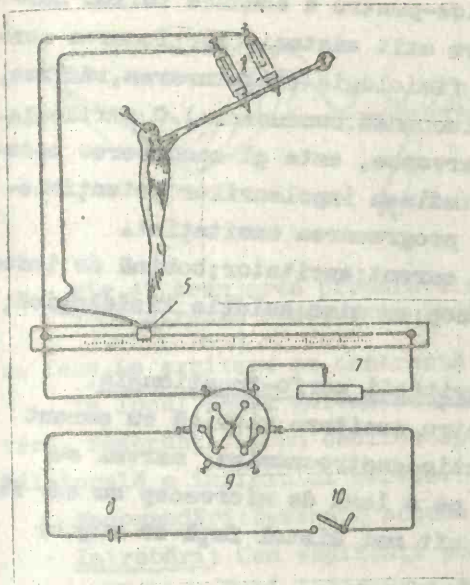


Fig.45.Instalaţia pentru demonstrarea legilor contracţiei ale lui Pflüger.5=cursorul reostatului(7);9=cheia Pohl.1=electrozi impolarizabili.

Se pune cursorul reostatului, într-o poziţie, care include în circuit toată rezistenţa. Cu cheia Pohl aranjăm un curent descendent.Deplasînd treptat cursorul reostatului şi închizînd şi deschizînd circuitul electric, vom afla o intensitate de curent care provoacă contracţia de prag a muşchiului.De remarcat că efectul apare numai la închiderea circuitului.Mărind intensitatea curentului, prin deplasarea cursorului, şi închizînd şi deschizînd circuitul, se obţine o intensitate medie de curent, care dă contracţii atît la închidere cît şi la deschidere; contracţia de deschidere fiind ceva mai slabă.Se va aduce curentulla o intensitate forte şi se va observa dispariţia contracţiei la deschiderea circuitului, contracţia la închidere fiind puternică.

Se va schimba sensul curentului continuu, cu ajutorul cheiei Pohl şi se va repeta experienţa în aceeaşi ordine ca mai sus.

Întrebări: Ce sînt legile contracţiilor ale lui Pflüger?

26.LEGILE CONDUCERII INFLUXULUI NERVOS.

Fibrele nervoase, care alcătuiesc împreună un nerv, conduc influxul nervos după următoarele legi: 1)-legea conducerii izolate, înţelegîndu-se prin aceasta, proprietatea fiecărei fibre de a conduce exclusiv şi independent impulsurile proprii, care nu difuzează asupra fibrelor vecine; 2)-legea conducerii indiferente,

adică în ambele sensuri în raport cu zona excitată; 3)-legea integrităţii anatomice şi fiziologice-pentru a conduce influx nervos, nervul trebuie să fie întegru atît anatomic(secţionarea nervului suprimă conducerea) cît şi fiziologic (ligaturarea,răcirea, anestezierea locală a nervului,blochează conducerea).O particularitate a conducerii în fibrele nervoase, este şi conducerea nedecrementială , în sensul că amplitudinea impulsurilor potenţialelor de acţiune, nu diminuează cu progresarea excitaţiei.

Echipament necesar:sursă de curent;excitator;bobină de inducţie;întrerupător; lame de microscop;amoniac;soluţie fiziologică; broască.

Mod de lucru: 1-Legea integrităţii morfo-funcţionale:

Se instalează aparatele pentru excitare ritmică cu curent indus.Se prepară preparatul sciatic-gastrocnemian, nervul se aşează într-o cameră umedă, sau pe o lamă de microscop cu ser fiziologic şi se aplică excitatorul cît mai distal faţă de muşchi (Fig.46).

Se alege o intensitate de curent supraliminală şi se verifică efectul(contracţia muşchiului).

Fig.46. S=locul de secţiune a nervului;A=anestezic.

Se secţionează sciaticul(S) iar capetele secţionate ale nervului se pun în contact.Se excită nervul pe o zonă distală faţă de secţiune, cînd nu se obţine efect motor.Ce demonstrează această experienţă? Se aplică excitatorul pe porţiunea proximală a nervului şi se excită.Muşchiul se contractă.Se aplică o picătură de amoniac pe o zonă a nervului cuprinsă între muşchi şi excitator. După un timp se verifică conductibilitatea nervului.Ne vom convinge de dispariţia contracţiei muşchiului.Se înlătură picătura de amoniac şi se spală de cîteva ori zona respectivă cu soluţie fiziologică.Se va excita din nou nervul.Ce efect se obţine? După refacerea completă a conductibilităţii, aplicăm o ligatură pe nerv între excitator şi muşchi şi verificăm dispariţia conductibilităţii nervului.

În practica medicală distrugerea integrităţii anatomice a nervului, se întîlneşte în cazurile de secţionare a nervilor, iar cea fiziologică-prin comprimarea lor (tumori, calus vicios etc.)

2.Legea conducerii indiferente:se prepară 2 labe galvanoscopice.Aranjăm nervul celei de a doua labe, ca să atingă suprafaţa primului nerv în două puncte (Fig.47).Aplicăm excitatorul pe nervul primei labe,între muşchi şi nervul celei de a doua labe.La excitare se contractă şi laba a doua.De ce?

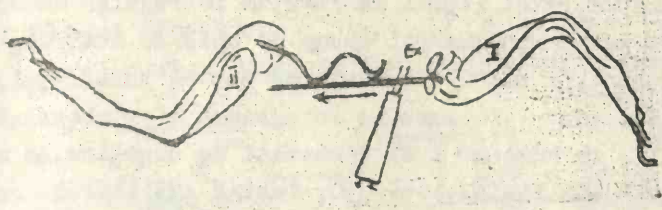


Fig.47.Aranjarea preparatelor pentru demonstrarea conducerii indiferente.

In locul labei galvanoscopice,se pot aplica electrozi de derivare, racordaţi la un osciloscop, care va evidenţia propagarea bilaterală a influxului nervos.

Recomandări:Desenaţi schema instalaţiei folosite.

Intrebări: Cum explicaţi polarizarea funcţională a neuronului şi legea conducerii indiferente?

CAPITOLUL III

FIZIOLOGIA SISTEMULUI NERVOS CENTRAL.

Unitatea structurală şi funcţională de bază a ţesutului nervos o constituie neuronul.Totuşi proprietăţile sistemului nervos central(SNC), nu rezultă dintr-o însumare mecanică a proprietăţilor elementare ale numărului imens de neuroni, ce intră în alcătuirea lui.Aici îşi găseşte reflectarea una din legile de bază ale dialecticii:legea trecerii de la schimbări cantitative în schimbări calitative.

La nivelul SNC fiecare neuron nu acţionează separat, ci în cadrul unui sistem organizat de neuroni.Sistemele neuronale elementare intră în alcătuirea altor sisteme mai complexe, care la rîndul lor participă la alcătuirea sistemelor şi mai complicate. In felul acesta complexitatea morfo-funcţională a creierului, este cauzată atît de mecanismele proceselor, ce se desfăşoară la nivel celular, cît şi de organizarea sistemelor neuronale şi a legăturilor dintre ele.

Studiile fiziologice ale SNC au demonstrat că funcţiile cele

mai complicate ale organismului, rezultă din activitatea integratoare a întregului SNC.Gîndirea,memoria, formarea actelor complexe de comportament, sînt legate de funcţia întregului SNC.Sistemul nervos este unic prin numărul imens de acte de control, pe care le poate efectua.El poate primi mii de bit de informaţii, venite prin diferite canale, pe care le integrează şi elaborează programul acţiunii, ce urmează a fi efectuată de organism.De aceea cercetările actuale ale fiziologiei SNC, îmbină explicarea legilor generale ale activităţii SNC, cu cercetarea mecanismelor care stau la baza sa.

In studiul experimental al SNC, se utilizează metode complexe, din care mai importante sînt:

1-studiul reflexelor condiţionate şi necondiţionate ale animalelor şi omului;

2-lezarea sau extirparea chirurgicală a diferitelor porţiuni ale SNC, urmată de observarea activităţii organismului;

3-excitarea electrică sau chimică a unor formaţiuni nervoase, urmată de analiza reacţiilor periferice;

4-studiul biopotenţialelor de la nivelul diferitelor etaje ale sistemului nervos, în diferite condiţii experimentale.

Deseori pentru concluzionarea fermă a rezultatelor, este necesară combinarea diferitelor metode experimentale.

27.ANALIZA ACTULUI SI ARCULUI REFLEX.

Prin act reflex se înţelege reacţia de răspuns a organismului la acţiunea unui excitant, realizată cu participarea sistemului nervos central.Baza anatomică a actului reflex, este arcul reflex, care în cea mai simplă formă constă din: a)-o cale aferentă(centripetă) formată dintr-un organ receptor, la nivelul căruia apare potenţialul receptor şi neuronul senzitiv, care prin prelungirile sale transmite impulsul nervos la sistemul nervos central.La reflexele medulare, corpurile celulare ale neuronilor aferenţi se află în ganglionii spinali de pe rădăcinile posterioare ale nervilor rahidieni; b)-o cale eferentă (centrifugă) constituită din axonul neuronului motor sau secretor, care conduce impulsurile de la SNC la efector(muşchi,glandă).In cazul arcurilor reflexe spinale somatomotoare, axonii neuronilor eferenţi, părăsesc măduva prin rădăcinile anterioare.Corpul lor celular se află în coarnele anterioa-

re(motoneuronii alfa şi gama); c)-un centru nervos situat în substanţa cenuşie a SNC, constituit din corpul celular şi dendritele neuronului eferent şi sinapsa cu prelungirea centrală a neuronului aferent (Fig.48).

Arcul reflex poate fi bineuronal (monosinaptic) şi plurineuronal(polisinaptic).

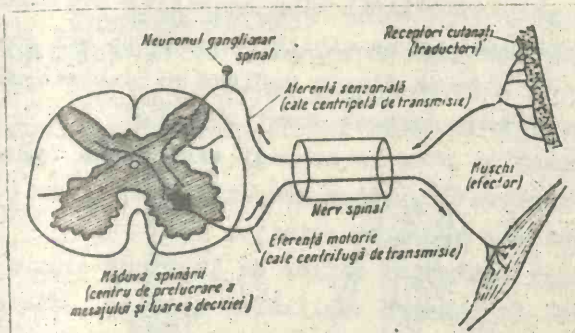


Fig.48.Schema unui arc reflex.

Pentru a avea loc un act reflex, este necesară integritatea morfofuncţională a arcului reflex.

Material necesar: stativ pentru suspendat animalul;novocainã 4%; acid acetic 5%;cronometru capsule; pahare cu apă; trusă de disecţie;broască.

Mod de lucru:se pregăteşte o broască spinală(secţionarea fălcii superioare la nivelul comisurilor bucale), lăsînd intactă numai măduva spinării.Se suspendă broasca pe un stativ, cu ajutorul unui cîrlig metalic introdus în mandibulă.Extirparea creierului este urmată de o perioadă de flaciditate musculară (şoc spinal), care la broască poate dura cîteva minute(10-15 minute).In perioada şocului spinal, nu pot fi provocate acte reflexe(verificaţi, presînd cu o pensă diferite părţi ale corpului).

-1:se pun într-o capsulă aproximativ 10 ml soluţie acid acetic 5%.Se introduce capsula sub unul din picioarele posterioare şi se ridică în sus, pînă cînd vîrful celui mai lung deget atinge soluţia. După cîteva momente se observă că broasca îşi îndoaie piciorul excitat.Acesta este un act reflex simplu.

-2:se înfăşoară laba posterioară cu un manşon de vată îmbibat cu anestezic(novocainã) şi se lasă aproximativ 20 minute,timp în care are loc anestezierea tuturor receptorilor tegumentari.După acest interval se înmoaie din nou vîrful degetului în soluţia de acid acetic 5%, cînd vom observa că reflexul de flexie a dispărut. De ce?Zona anesteziată se spală cu apă timp de 15 minute, după care reapare reflexul.

-3:La aceeaşi broască, se descoperă nervul sciatic pe o distanţă de 1,5-2 cm.Introducem sub nerv un fir de aţă, fără a-l în-

nduda.Producem un reflex de flexie, excitînd chimic receptorii de pe vîrful degetului.După aceasta, ajutîndu-ne de firul de aţă, introducem sub nerv un tampon de vată îmbibat cu anestezic (se poate folosi şi cloroform).După fiecare minut se testează prezenţa reflexului.Se va nota timpul dispariţiei reflexului la excitarea chimică, ca urmare a paralizării fibrelor senzitive din nervul sciatic mixt.Imediat după aceasta se excită tegumentul mai sus de nivelul narcotizării şi se observă flexia reflexă şi a piciorului cu nervul exteriorizat.Ce demonstrează acest răspuns?
În continuare se va nota momentul cînd la aceeaşi excitare a tegumentului, dispare reacţia piciorului, adică momentul anestezierii complete a filetelor motorii ale nervului sciatic.

Demonstrarea necesităţii prezenţei căilor de legătură dintre centrul nervos şi periferie, în vederea realizării actelor reflexe, se poate face şi prin secţionarea n.sciatic.

-4:ne convingem de prezenţa reflexului de flexie, după care distrugem măduva spinării, cu un ac de paralizat.Se va observa dispariţia tuturor reflexelor.Ce demonstrează această parte experimentală?

Recomandări: Se va desena schema experienţei.Pe baza experienţelor efectuate, se vor trage concluziile.

Întrebări:Poate un arc reflex cuprinde 2 sau mai mulţi neuroni intercalari?

28.DETERMINAREA TIMPULUI REFLEX DUPĂ TÜRK

Prin timp reflex, sau perioada latentă a reflexului, se înţelege timpul care se scurge din momentul aplicării excitantului pe receptor, pînă la apariţia actului reflex.El este determinat de: 1)-timpul necesar apariţiei la nivelul receptorului a potenţialului receptor(generator), care generează influxul nervos(potenţialul de acţiune),conducerea influxului nervos pe cale aferentă în centrul nervos; 2)-propagarea excitaţiei la nivelul centrului; 3)-timpul de transmitere a excitaţiei pe cale eferentă; 4)-timpul necesar efectuării răspunsului din partea efectorului.Obişnuit cea de a doua componentă, necesită un timp mai îndelungat, datorită întîrzierii transmiterii impulsului la nivelul sinapselor(întîrziere sinaptică).Timpul total, necesar propagării impulsurilor în diferite circuite neuronale, ne dă indicaţii cu privire la numărul

total de sinapse în circuitul nervos respectiv.

Timpul reflex depinde de caracterul fibrelor nervoase pe care se efectuează reflexul (vz.lucrarea 23); de intensitatea şi timpul de acţiune a excitantului, cît şi de mărimea cîmpului receptor(suprafaţa reflexogenă).

Material necesar:stativ pentru suspendat animalul;metronom; instrumentar de disecţie;soluţii de H_2SO_4 0,1%;0,3%;0,5%;broasca.

Mod de lucru:se prepară o broască spinală şi se atîrnă de un stativ, printr-un cîrlig fixat pe mandibulă(Fig.49).

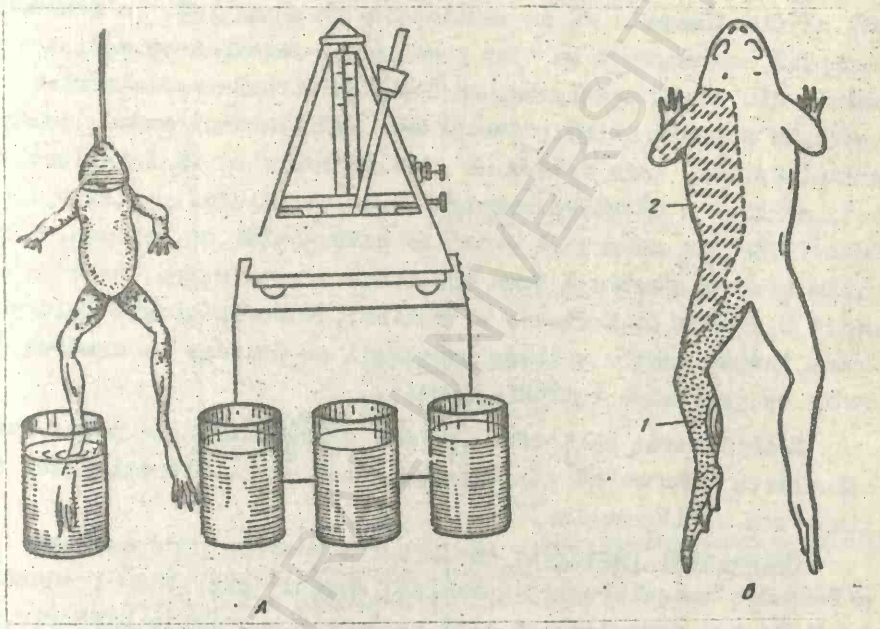


Fig.49.A-Determinarea timpului reflex după Türk;B-cîmpul receptor al reflexelor medulare:1-de flexie;2-de frecare.

Se introduce laba membrului posterior în H_2SO_4 0,1% concomitent cu pornirea metronomului(1 bătaie pe secundă).Se măsoară timpul din momentul aplicării excitantului, pînă la apariţia reflexului de flexie a membrului excitat.După efectuarea măsurătorii, se spală preparatul cu apă.Se repetă experienţa de 2-3 ori la intervale de 2-3 minute şi se calculează valoarea medie a timpului reflex pentru intensitatea respectivă a excitantului.

Se repetă aceleaşi operaţii cu soluţiile de H_2SO_4 0,3% şi 0,5%.

Recomandări: se va nota timpul reflex pentru fiecare intensitate a excitantului.

Intrebări: Ce se înţelege prin perioada latentă a reflexului? Care este relaţia între perioada latentă a reflexului şi intensitatea excitantului?

29. DETERMINAREA INTIRZIERII SINAPTICE.

Timpul cît impulsul nervos circulă la nivelul centrului, este determinat cu precădere de întîrzierea sinaptică. Pentru ca impulsul să fie transmis de pe terminaţia presinaptică, la neuronul postsinaptic, se consumă un timp pentru: a)-descărcarea mediatorului chimic din terminaţia presinaptică; b)-difuzia mediatorului în membrana postsinaptică; c)-acţiunea mediatorului asupra membranei postsinaptice, care determină difuzia sodiului în interiorul celulei, cauzînd o creştere treptată a potenţialului postsinaptic excitator(EPSP) în măsură să genereze potenţialul de acţiune. Timpul minim, necesar pentru a avea loc toate aceste etape, este de aproximativ 0,5 msec(întîrzierea sinaptică). Neurofiziologii folosesc acest indice pentru a trage concluzii cu privire la numărul de neuroni, ce participă într-un circuit.

Determinarea perioadei latente a reflexului se poate face prin calcularea diferenţei perioadelor latente ale potenţialelor de acţiune sau a miogramelor.

Principiul lucrării: se înregistrează pe rînd perioada latentă a 2 secuse musculare ale aceluiaşi muşchi, excitîndu-l odată în imediata lui apropiere şi altă dată-prin n.sciatic simetric, determinînd în felul acesta trecerea influxului nervos prin măduvă. Diferenţa de timp dintre cele două perioade latente, din care se scade timpul consumat de propagarea impulsului de-a lungul nervilor sciatici, ne arată valoarea timpului de întîrziere în măduvă.

Materiaí necesar: aparate necesare înscrierii perioadei latente a secusei; 2 excitatoare; cheie Pohl; seringă 1 ml; soluţie stricnină 1/2.000; broasca.

Tehnica: se fixează pe pluta miografului o broască normală. Se descoperă m. gastrocnemian la unul din membrele posterioare şi ambii nervi sciatici. Injectăm în sacii limfatici dorsali 0,1 ml soluţie stricnină, care după o perioadă relativ scurtă, produce o creştere a excitabilităţii reflexe. Unul din nervi sciatici (B Fig 30) se leagă la capătul periferic şi se secţionează sub ligatură.

n. sciatic pe excitator.

Inscriem perioada latentă a muşchiului,excitîndu-l cu excitatorul A(Fig.50)., după care schimbăm sensul curentului cu ajutorul cheiei Pohl şi excităm muşchiul cu excitatorul B.Măsurăm lungimea nervilor sciatici, prin care trebuie să circule impulsul nervos.Cunoscînd viteza de conducere a impulsului prin nerv,(vz.lucrarea 23) se determină timpul consumat pentru străbaterea lui.Această valoare scădem din diferenţa celor două perioade latente, iar rezultatul obţinut, reprezintă timpul cît influxul nervos a întîrziat la nivelul măduvei spinării.

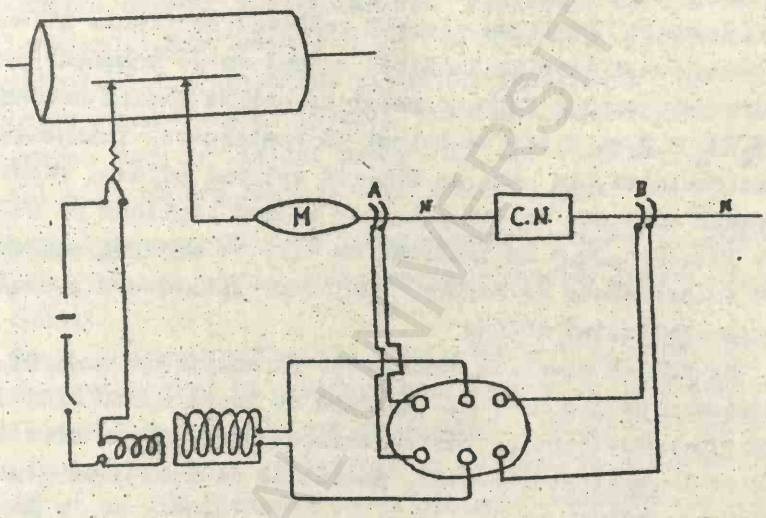


Fig.50.Schema de instalare a aparatelor pentru calcularea întîrzierii sinaptice.M=muşchi; C.N.=centrul nervos; A=excitator proximal şi distal(B);N=nervii sciatici.

Recomandări:Inregistrările obţinute se vor ataşa în caietul de referate.

Intrebări: De cine este dată întîrzierea sinaptică?

30. ZONE REFLEXOGENE ALE REFLEXELOR MEDULARE.

Actele reflexe pot apare în urma excitării anumitor zone ale corpului, în care sînt localizaţi receptorii arcurilor reflexe respective.Deci, fiecare reflex îşi are zona sa reflexogenă, adică porţiunea din corp, prin excitarea căreia apare reflexul.Caracterul reacţiei care apare după excitarea zonei receptoare, depinde nu numai de localizarea ei pe corp, ci şi de intensitatea şi durata de acţiune a excitantului cît şi starea fiziologică a centrilor.

Reflexele necondiţionate elementare, care apar pe un animal spinal, se numesc reflexe medulare.

Material necesar: stativ pentru suspendat broasca; H_2SO_4 0,1%; 0,3%; 0,5%; hîrtie filtru; instrumentar; broaşte.

Tehnica: se prepară o broască spinală. După trecerea şocului spinal, se atîrnă broasca de stativ cu ajutorul unui cîrlig introdus în mandibulă.

Se secţionează bucăţi de hîrtie de filtru (4-6mm). Umectăm o bucată de hîrtie de filtru în H_2SO_4 0,1% şi o aplicăm cu o pensă pe tegumentul labei. Se observă reflexul de flexie al extremităţii corespunzătoare. Se înlătură acidul de pe tegument prin introducerea piciorului într-un pahar cu apă. Se excită acelaşi picior cu H_2SO_4 0,3 şi 0,5%. Vom folosi în continuare, intensitatea minimă a excitantului, la care se observă cel mai evident răspuns. Hîrtia umectată cu H_2SO_4 de concentraţia aleasă, aplicăm pe abdomen în zona laterală. După un interval de timp, se observă reflexul de apărare - folosindu-se de membrul posterior ipsilateral, broasca va înlătura excitantul nociv.

Se aplică succesiv excitantul pe suprafaţa externă a labei anterioare; pe abdomen, mai aproape de linia mediană; în zona dintre membrele anterioare şi posterioare, etc (Fig. 49). De fiecare dată se notează caracterul reacţiei, provocate de excitarea zonei receptoare respective.

Intervalele dintre excitări succesive, nu vor fi mai mici de 2-3 minute; după fiecare excitare se introduce broasca în pahar cu apă şi se spală resturile de acid (Fig. 49).

Recomandări: Se va desena schema cîmpului receptor al reflexului de apărare observat.

Întrebări: Ce reflexe cunoaşteţi, care au aceeaşi zonă reflexogenă?

31. FIZIOLOGIA RĂDĂCINILOR NERVILOR RAHIDIENI. LEGEA BELL-MAGENDIE.

Bell şi Magendie au arătat că:

a) - Secţionarea rădăcinilor ventrale (anterioare) ale nervilor rahidieni este urmată de paralizia musculaturii scheletice, fără tulburări senzitive, în timp ce secţionarea rădăcinilor dorsale cauzează un deficit senzitiv, fără afectarea motricităţii.

b)-Stimularea capătului periferic al rădăcinii ventrale determină reacţii motorii, pe cînd a celor dorsale-rămîne fără efect.

c)-Stimularea capătului central al rădăcinii dorsale provoacă reacţii generale dureroase, pe cînd a rădăcinii ventrale rămîne fără efect.

d)-dacă după secţionarea rădăcinii motorii, care inervează un membru, se stimulează tegumentul membrului paralizat, animalul reacţionează prin contracţii ale celorlalte membre, expresie a durerii.

Concluziile acestor experienţe sînt cunoscute sub numele de legea Bell-Magendie.Exprimată succint ea arată că rădăcinile dorsale(posterioare) sînt senzitive şi conduc impulsurile centripet, iar rădăcinile ventrale sînt motorii: conduc impulsurile de la centrii nervoşi spre periferie(centrifug).Descriem mai jos cîteva procedee folosite pentru demonstrarea acestei legi.

A.Material necesar:broasca,instrumentar de disecţie,baghetă de sticlă,fire de aţă,bobina de inducţie,excitator,întrerupător, sursă de curent.

Mod de lucru: se anesteziază uşor o broască cu eter, aşezînd-o sub un clopot de sticlă în prezenţa unui tampon de vată îmbibat în eter.Se fixează broasca pe plută în decubit ventral, se incizează pielea în lungul coloanei vertebrale şi se răsfrînge lateral.Se secţionează şi se îndepărtează cu un bisturiu musculatura spinodorso-lombară, de o parte şi de alta a apofizelor spinoase ale vertebrelor.

Introducem indexul de la mîna stîngă sub coloana vertebrală şi o flectăm uşor cu mîna dreaptă, încît să rupem pe cît posibil numai ligamentul superior dintre 2 vertebre.Ruptura se va face într-o regiune cît mai posterioară a coloanei vertebrale, dar înaintea hipostilului.Prin această ruptură a coloanei vertebrale, se poate vedea măduva spinării în canalul vertebral.

Cu.o foarfecă fină şi curbă, se secţionează arcurile vertebrale, avînd grijă să nu se atingă măduva, iar cu o pensă se ridică apofiza spinoasă.Procedăm în felul acesta pentru vreo 3-5 vertebre şi descoperim măduva spinării pe o distanţă de 1-1,5cm. Ea ne apare acoperită de meninge.După îndepărtarea meningelui,cu ajutorul unei pense foarte fine,măduva ne apare ca un cordon alburiu.De o parte şi alta a măduvei spinării,se văd nişte filete sub-

ţiri, îndreptate spre trenul posterior al broaştei, care sînt rădăcinile nervilor rahidieni.Rădăcinile senzitive sînt mai subţiri, cenuşii şi situate superficial, iar cele motorii sînt mai groase, albe strălucitoare şi aşezate mai în profunzime.

Cu ajutorul unor baghete fine de sticlă cu vîrful bont, se disociază cîte un filet nervos, ce iese prin porţiunea dorsală a coloanei vertebrale (rădăcină posterioară) şi un filet, care iese prin partea ei anterioară(rădăcină ventrală).Cu ajutorul unei pense fine, se trec pe sub fiecare rădăcină, 2 fire de aţă umezite cu soluţie fiziologică.Pentru fiecare rădăcină putem folosi fir de aţă de culoare diferită.

Pe fiecare rădăcină se fac două legături separate dar apropiate între ele la o distanţă de 1 mm(Fig.51). Intre cele 2 legături secţionăm rădăcina cu o foarfecă.In felul acesta obţinem pentru fiecare rădăcină , 2 capete legate cu fir de aţă de aceeaşi culoare:un capăt central legat de măduvă şi un capăt periferic, ce se îndreaptă spre periferie(Fig.51,I,II,III). Toată operaţia trebuie efectuată cu multă atenţie pentru a nu rupe firetele izolate.

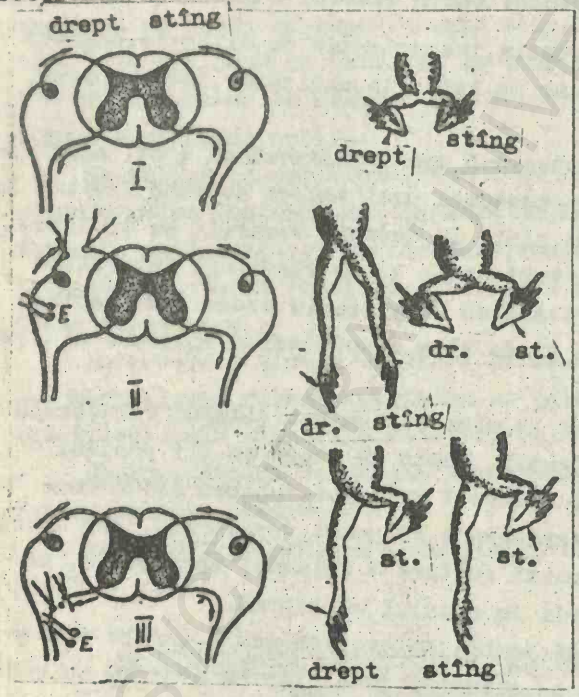


Fig.51.Efectul secţionării rădăcinilor nervilor rahidieni asupra efectului excitării labei posterioare sau a unui capăt al rădăcinii.In dreapta efectul excitării;în stînga-schema secţiunii.Săgeata indică locul aplicării excitantului.E=excitator aplicat direct pe un capăt de rădăcină.

Cu ajutorul unei bobine de inducţie, alegem un curent excitant slab, tetanizant, cu ajutorul căruia excităm succesiv capetele proximale şi distale ale celor 2 rădăcini secţionate:

a)-excitarea capătului periferic al rădăcinii anterioare, provoacă totdeauna contracţia unor anumiţi muşchi(Fig.51,III stînga).

b)-excitarea capătului central al rădăcinii anterioare, rămîne fără efect.

c)-excitarea capătului periferic al rădăcinii posterioare, nu produce nici o reacţie(Fig.51,II stînga).

d)-excitarea capătului proximal al rădăcinii posterioare,provoacă o puternică reacţie dureroasă, tradusă prin nelinişte, mişcări generalizate, rotirea globilor oculari.

B.Material necesar:ca la procedeul A şi în plus port-ac;aţă chirurgicală;ac chirurgical.

Mod de lucru: după descoperirea măduvei spinării ca la procedeul A, se secţionează rădăcinile posterioare ale segmentelor lombare şi sacrale într-o parte a corpului, iar în partea opusă se secţionează la acelaşi nivel rădăcinile anterioare.Se suturează rana şi se lasă broasca pentru 3-4 ore.După acest interval de timp, sau în ziua următoare, se pot efectua experienţele.Excitarea puternică a membrului, care prezintă intactă numai inervaţia senzitivă, determină o reacţie reflexă a tuturor extremităţilor, cu excepţia membrului excitat, care rămîne imobil(Fig.51,III.Pe figura 51 secţiunea rădăcinilor anterioare sau posterioare este făcută în aceeaşi parte a corpului, dar pe animale diferite).

Excitarea membrului, care prezintă intactă numai inervaţia motorie, nu este urmată de efect motor (Fig.51,II).In schimb excitarea oricărei alte părţi a corpului, cauzează contracţia şi a acestei extremităţi.

C.Colectarea biopotenţialelor de pe rădăcinile nervilor spinali.

Echipament necesar:instalaţie pentru cercetarea potenţialelor de acţiune, plus ca la punctul A.

Tehnica: după descoperirea rădăcinilor nervilor rahidieni, se aplică electrozii de derivare sub rădăcinile posterioare, pe care îi conectăm cu amplificatorul de curent.Rădăcinile anterioare se aplică pe electrozii de excitare, conectaţi cu ieşirea din stimulator (Fig.52).Se aplică excitanţi izolaţi pe rădăcinile anterioare şi ne convingem că în rădăcinile posterioare, nu apare curent de acţiune(Fig.52,2).

Modificăm poziţia electrozilor:se excită rădăcinile posterioare şi se observă apariţia potenţialului de acţiune în rădăcinile anterioare(Fig.52,1).Se va modifica intensitatea excitantului şi frecvenţa lui şi se va observa caracterul modificărilor, care apar

în potenţialele de acţiune.Pe baza curbei de calibrare, se determină caracteristicile lor.

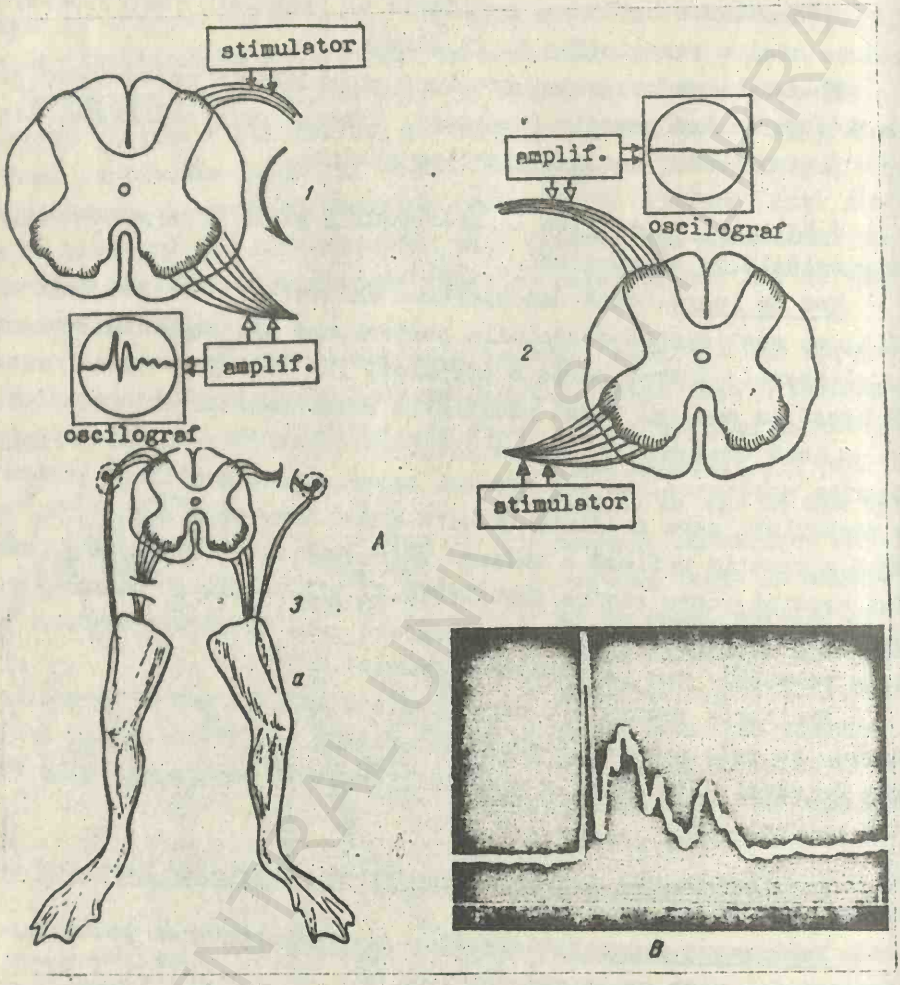


Fig.52.Schema experienţei pentru studiul fiziologiei rădăcinilor nervilor rahidieni.A:1-excitarea rădăcinilor posterioare şi derivarea potenţialelor de acţiune de pe rădăcinile anterioare; 2-excitarea rădăcinilor anterioare şi derivarea potenţialelor de pe rădăcinile posterioare;3-secţionarea rădăcinilor posterioare în dreapta şi a celor anterioare-în stînga.B=Forma biopotenţialului colectat.Timp-5 msec.

Recomandări: se va desena schema operaţiei şi a instalaţiei folosite pentru studiul fiziologiei rădăcinilor.

Întrebări: Care este structura rădăcinilor? Care este fiziologia lor? Dacă electrozii de excitare se aplică pe rădăcina posterioară intactă, putem deriva potenţialul de pe partea lui periferi

32. LEGILE REFLEXELOR EXTEROCEPTIVE MEDULARE. LEGILE LUI PFLÜGER

Legile lui Pflüger ilustrează relaţia dintre intensitatea stimulării şi amplitudinea reacţiei reflexe, precum şi modul de organizare complexă al reflexelor medulare exteroceptive.

Cînd, la un animal decerebrat, intensitatea excitantului aplicat pe o zonă receptivă se măreşte treptat, procesul excitator central se extinde la un număr tot mai mare de motoneuroni. Ca o consecinţă, numărul de muşchi ce intră în activitate reflexă, este tot mai mare. Fenomenul, care are loc la nivelul central, se numeşte iradiere. Neuronul aferent, pătrunzînd în substanţa cenuşie a măduvei spinării, sinapsează nu numai cu motoneuronii din acelaşi segment, ci şi cu un mare număr de neuroni (îndeosebi intercalari cît şi motori) dispuşi atît anterior cît şi posterior faţă de locul de intrare a fibrei. Datorită variabilităţii rezistenţei la nivelul diferitelor sinapse, impulsul la nivelul centrului nu se propagă fără nici o ordine la toţi motoneuronii din o zonă dată, ci este dirijat numai pe anumite căi.

Sinapsele terminaţiilor aferente cu motoneuronii cei mai apropiaţi, au pragul cel mai coborît, dar, pe măsură ce intensitatea stimulului creşte, impulsurile se propagă la distanţă şi excită neuronii segmentelor adiacente şi apoi pe cei mai depărtaţi. Unele căi anatomice posibile de realizare a iradierii, sînt indicate în Fig. 53).

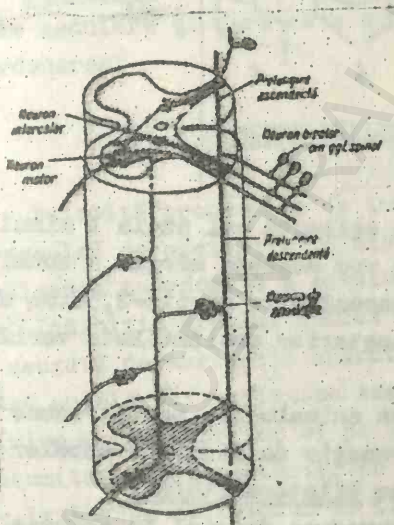


Fig. 52.

Material necesar: stativ cu tijă orizontală; cîrlig de sîrmă; trusă de disecţie; pahare; acid acetic 1%; 2%; 5%; 15%; acid acetic glacial; hîrtie de filtru; broasca.

Tehnica: se lucrează pe o broască spinală, decapitată, pe care o suspendăm pe un suport cu un cîrlig fixat în mandibulă. Se lasă un timp pentru a trece şocul operator, după care se fac următoarele experienţe:

1)-Se introduce degetul piciorului în soluţie de acid acetic

1%.După un timp se obţine o uşoară flectare a degetului, care a fost excitat(Fig.54).Deci un excitant slab, provoacă o reacţie,care rămîne limitată la un număr redus de muşchi-legea localizării.

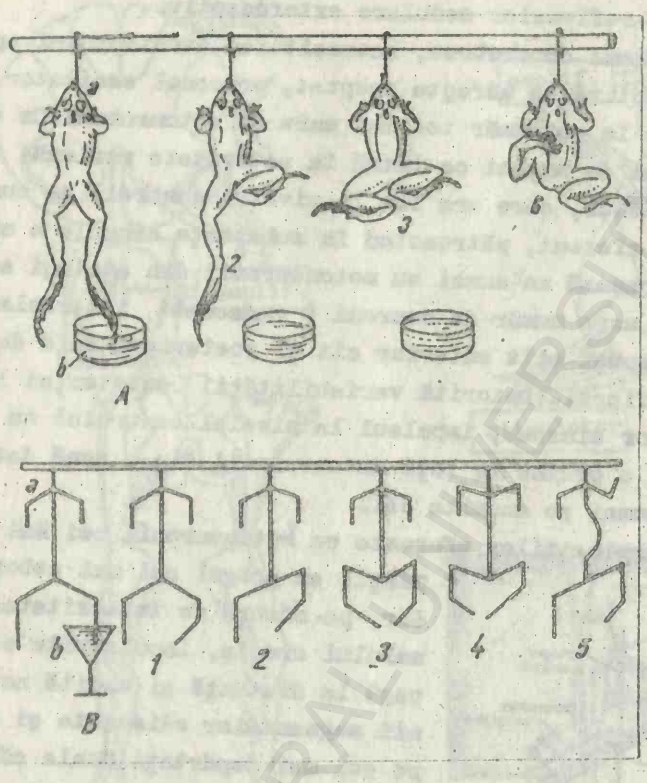


Fig.54.A.Demonstrarea legilor lui Pflüger;B. Schematizarea reacţiilor animalului.a-broasca spinală;b-vas cu apă acidulată. 1-legea localizării;2-legea unilateralităţii; 3-legea simetriei; 4-legea iradierii; 5-legea generalizării; 6-legea coordonării.

2)-Se spală laba cu apă şi se aşteaptă cel puţin 1 minut (de ce?), după care se cufundă din nou aceeaşi mărime a zonei receptoare într-o soluţie de acid cu concentraţie mărită-2,5%.Se observă reacţia de flexie a membrului posterior excitat.Este verificată legea unilateralităţii.

3)-După spălarea şi liniştirea animalului, se introduce degetul în acid acetic 5%.Se observă reacţia de flexie a ambelor membre posterioare-legea simetriei sau bilateralităţii.

4)-După o nouă spălare, se introduce degetul în soluţia de acid acetic 15%.In acest caz intră în contracţie şi muşchii membrelor anterioare, ca urmare a iradierii excitaţiei la nivele medulare superioare.Aceasta verifică legea iradierii.

5)-După spălarea animalului, dacă cufundăm degetul într-o soluţie şi mai concentrată(acid acetic glacial), intră în contracţie toţi muşchii animalului.Reacţia este generalizată ca urmare

a excitării tuturor centrilor motori medulari-legea generalizării.

6)-Se aplică un fragment de hîrtie de filtru, înmuiat în acid acetic glacial, pe tegumentul regiunii dorsale a broaştei, puţin mai lateral.Folosindu-se de membrul posterior ipsilateral, broasca va înlătura excitantul nociv.Se spală cu apă locul excitat, după care se reia experienţa în felul următor:se leagă(sau se amputează) membrul posterior dintr-o parte , după care se aplică,ca mai sus, excitantul pe aceeaşi parte a tegumentului.Se constată cum broasca va încerca iniţial să înlăture excitantul cu membrul posterior ipsilateral, care fiind imobilizat, va folosi membrul posterior simetric, cu care reuşeşte să înlăture excitantul.Rezultă că şi reflexele, care se desfăşoară numai cu participarea maduvei spinării, au un caracter coordonat-legea coordonării.

Mărirea gradată a intensităţii excitantului, în vederea demonstrării legilor lui Pflüger, se poate obţine şi cu ajutorul unei bobine de inducţie, excitantul fiind aplicat pe laba piciorului posterior.

Recomandări: se va schiţa arcul reflex pentru fiecare lege a reflexelor.

Întrebări:De unde rezultă caracterul coordonat al actelor reflexe medulare şi care este mecanismul prin care se realizează coordonarea?

33.INHIBIŢIA REFLEXELOR MEDULARE.

Datorită proceselor de inhibiţie, are loc limitarea iradierii procesului de excitaţie în sistemul nervos central şi se asigură realizarea coordonată a actelor reflexe.

Inhibiţia arcului reflex al unui oarecare act reflex, poate fi cauzată de excitaţia apărută în arcul reflex, pe care se desfăşoară un alt act reflex.De exemplu, dacă în momentul excitării chimice a receptorilor de pe talpa unui membru posterior, se excită concomitent presoceptorii, de pe membrul posterior simetric, are loc inhibarea reflexului de flexie a primului picior.După întreruperea excitării presocepterilor celei de a doua labe, reflexul de flexie la prima labă, se manifestă mai puternic, datorită inducţiei succesive pozitive de la nivelul centrului arcului reflex.

Se pot inhiba reflexele, care după caracterul său sînt antagoniste (flexie şi extensie;deglutiţia şi inspiraţia;grataj(scărpina-

re) şi alergare etc).Mecanismul neuronal, care cauzează această relaţie reciprocă, poartă denumirea de inervaţie reciprocă.

Apariţia inhibiţiei depinde de intensitatea excitantului.In cazul excitanţilor foarte puternici, apare o inhibiţie generalizată a întregii activităţi reflexe a organismului, care, sub aspectul importanţei sale biologice, trebuie privită ca o formă de apărare a organismului-evitarea supraexcitării celulelor nervoase.

Material necesar:broască; stativ cu lamă orizontală;cîrlig metalic;trusă de disecţie;H_2SO_4 0,5%; metronom.

Mod de lucru:se pregăteşte o broască spinală prin decapitare şi se suspendă de suport.După trecerea şocului operator(5-10 minute) se determină timpul reflex după Türk.Se spală cu apă zona excitată, după care se repetă experienţa: excităm concomitent o labă cu acid sulfuric, iar cealaltă labă comprimăm puternic cu pensa sau cu degete.Dacă excitanţii încep să acţioneze concomitent, atunci nu se produce mişcarea labei.Dacă întrerupem excitantul mecanic, reflexul de flexie se manifestă mai puternic.

Recomandări:se va desena schema experienţei şi se vor trage concluzii.

Intrebări:Care este rolul procesului de inhibiţie de la nivelul sistemului nervos central?

34.INHIBITIA CENTRALA A REFLEXELOR MEDULARE. EXPERIENTA LUI SECENOV(1862).

Secenov a observat că prin excitarea electrică, mecanică sau chimică a lobilor optici, are loc o diminuare a reflexelor nociceptive medulare.Prin această experienţă, Secenov a constatat pentru prima dată existenţa procesului de inhibiţie în SNC.

Principiul metodei: se determină timpul reflex după Türk al reflexului de flexie al piciorului, la o broască cu encefalul exteriorizat şi neexcitat,cît şi în urma excitării chimice a lobilor optici.Din rezultatele obţinute, se trag concluzii cu privire la modificarea reactivităţii centrilor medulari, sub influenţa excitării unor etaje nervoase superioare.

Material necesar:stativ cu tijă orizontală;instrumentar de disecţie;H_2SO_4 0,5%;NaCl cristale; pahare;eter; broască.

Tehnica: se anestheziază uşor o broască(sau fără anestezie),

după care facem o incizie a tegumentului în formă de T pe linia mediană a craniului, începînd de la nivelul ochilor, pînă la nivelul timpanelor.Lambourile pielei se răsfrîng.Cu ajutorul unui bisturiu se curăţă bine oasele cutiei craniene.Introducem vîrful ascuţit al unui foarfece mic,în partea anterioară a cutiei craniene dezvelite şi facem o secţiune transversală a oaselor, lunecînd lama foarfecelui pe partea internă a oaselor pentru a nu afecta creierul.După aceasta se secţionează oasele pe părţile laterale şi se înlătură fragmentul de cutie craniană.

Cu un bisturiu ascuţit, facem o secţiune transversală a creierului, imediat anterior lobilor optici şi extirpăm zona anterioră secţiunii(Fig.55).

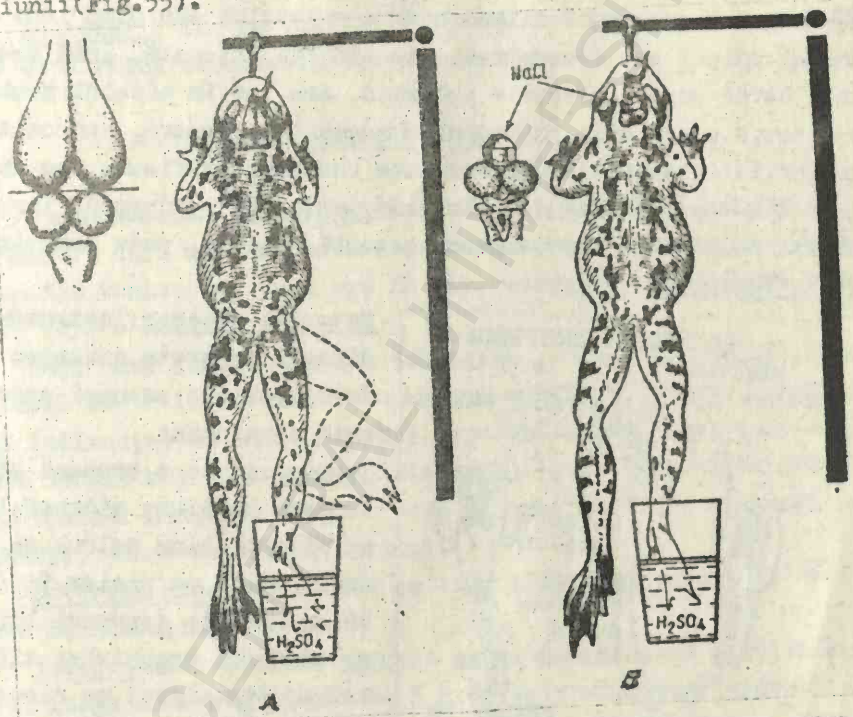


Fig.55.Experienţa lui I.M.Secenov pentru demonstrarea inhibiţiei centrale înainte (A) şi după aplicarea cristalului de NaCl pe lobii optici.

Se opreşte hemoragia cu tampoane de vată, după care se atîrnă broasca pe stativ.Se determină timpul reflex după Türk.După 2-3 minute,uscînd în prealabil suprafaţa creierului cu hîrtie de filtru, se aplică pe lobii optici cristali de NaCl şi se determină din nou timpul reflex.După aceasta înlăturăm cristalele de NaCl,

şi spălăm creierul cu soluţie fiziologică.După 5 minute se repetă determinarea timpului reflex.

Recomandări:se va nota timpul reflex, obţinut la prima, a doua şi a treia determinare şi se vor formula concluziile corespunzătoare.

Intrebări: Prin intermediul căror formaţiuni,pot etajele nervoase superioare inhiba activitatea motoneuronilor medulari?

35.INERVATIA RECIPROCA A MUSCHILOR ANTAGONISTI.

Contracţia voluntară sau reflexă a unui muşchi, se întovărăşeşte de relaxarea simultană a antagonistului său.Cînd laba unui animal spinal sau decerebrat este ciupită,înţepată, arsă sau excitată cu un curent electric puternic, are loc la nivelul membrului excitat,o contracţie puternică a muşchilor flexori, concomitent cu inhibiţia extensorilor.Acesta este reflexul de flexie sau de retragere.Fenomenul poartă denumirea de inhibiţie reciprocă, iar mecanismul neuronal, care cauzează această relaţie, este denumit inervaţie reciprocă (Fig.56).

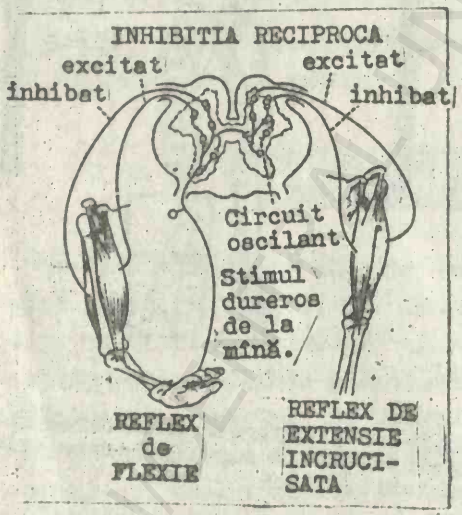


Fig.56.Schema reflexului de flexie,a reflexului de extensie încrucişată şi inhibiţia reciprocă.

Material necesar:instrumentar de disecţie;aparate necesare pentru înregistrarea secusei musculare; acid concentrat.

Tehnica:se ia o broască spinală, se pune pe pluta miografului şi se fixează bine şoldul şi genunchiul de la un picior.Se detaşează cu atenţie tendonul lui Achil: şi tendonul muşchiului tibialis anticus(vz.anexa) cu disecţii minime , fără a afecta inervaţia muşchiului; tendonul se secţionează aproape de periost; nu se secţionează teaca muşchiului. Fiecare capăt de tendon se leagă cu un fir de aţă şi se ataşează de peniţa miografului dublu.

Se aşează cele două peniţe pe aceeaşi generatoare a kimografului,

după care se aplică pe abdomenul broaştei, un fragment de hîrtie de filtru, îmbibat în acid puternic.Viteza kimografului va fi redusă.De observat că aceşti 2 muşchi nu se contractă niciodată simultan;cînd preparatul funcţionează bine, se observă activitatea alternativă a muşchiului-relaxarea unui muşchi în timpul contracţiei celuilalt.Dacă nu obţinem rezultate bune, vom modifica intensitatea excitantului.

Ca muşchi antagonişti putem folosi şi muşchiul triceps sural cu m. semitendinos.

Recomandări.Se va fixa cîte o porţiune de grafic, indicînd felul muşchilor care se contractă.

Intrebări: Cum se explică reflexul de extensie încrucişată? Care este rolul circuitelor reverberante?

36.TONUSUL MUSCHILOR STRIATI.

Tonusul muscular reprezintă contracţia reflexă constantă a muşchilor, care menţin postura caracteristică unei specii date. Reflexele tonice pot dura ore în şir, uneori o zi întreagă sau mai mult, fără a obosi.

Deşi baza fundamentală a tonusului la muşchii striaţi, este reflexul miotatic cu centru în măduva spinării, tonusul este profund influenţat de către etajele nervoase superioare, care acţionează asupra muşchiului prin intermediul gama motoneuronilor medulari.Tonusul muscular dispare după lezarea nervilor aferenţi sau eferenţi, sau a centrilor nervoşi.

Material necesar: stativ cu tijă orizontală;greutăţi de 5 g; trusă de disecţie;broasca.

Tehnica:la o broască spinală se exteriorizează n.sciatic drept şi se leagă cîte o greutate de 5 g de extremitatea fiecărei labe posterioare; se atîrnă animalul pe suport orizontal şi se constată că cele două greutăţi se găsesc la acelaşi nivel.După secţionarea n. sciatic, se constată că acest picior se alungeşte.

Recomandări:se va desena schema experienţei.

Intrebări: Prin ce mecanism afectează gama motoneuronii tonusul muscular? Care este deosebirea în acţiune a gama motoneuronilor şi a reflexelor miotatice în afectarea tonusului muscular?

37. REFLEXE MIOTATICE CU IMPORTANȚĂ CLINICĂ.

Reflexul miotatic sau de întindere este un reflex proprioceptiv, provocat prin întinderea unui mușchi. În modul cel mai simplu poate fi provocat la om prin percuția tendonului rotulian. Ca urmare se produce o întindere bruscă a fibrelor mușchiului cvadriceps, ceea ce determină contracția reflexă a acestuia, cu extensia gambei pe coapsă, ca urmare a excitării proprioceptorilor-fusurile neuromusculare. Este un reflex monosinaptic. Arcul reflex este format din proprioceptor, un neuron senzitiv situat în ganglionul spinal, o sinapsă, un motoneuron alfa și un efector (mușchi). Actul este reflex, deoarece dispare după secționarea rădăcinilor anterioare sau posterioare, este deprimat de anestezice și poate fi inhibat sau facilitat. Reflexul descris este <u>reflexul rotulian</u> și este realizat prin nervul crural anterior (Fig. 57 A).

Alt reflex medular proprioceptiv, este <u>reflexul achilian</u>, care poate fi provocat prin percutarea tendonului lui Achile, atunci cînd piciorul este îndoit în unghi drept și gamba se sprijină pe un suport. Se manifestă prin contracția mușchilor gemeni și prin extensia labei piciorului (Fig. 57, B). Nervul periferic este sciaticul.

<u>Reflexul plantar</u> este provocat de excitarea prin deplasarea unui vîrf ascuțit pe marginea externă a plantei, cu direcția dinspre călcîi spre degete; rezultă o flexie plantară a ultimelor patru degete de la picior, sau, mai frecvent, flexia plantară a halucelui (Fig. 57, C). Într-o leziune a căilor cortico-spinale, reflexul normal este înlocuit de flexia dorsală a halucelui și deseori o răsfirare în evantai a celorlalte 4 degete. Această reacție este denumită „ semnul lui Babinski".

<u>Reflexul bicipital</u> (Fig. 58 A) este provocat de o lovitură aplicată pe tendonul bicepsului la plica cotului; răspunsul constă într-o contracție rapidă a bicepsului cu flectarea cotului. Nervul periferic este n. musculo-cutanat.

<u>Reflexul tricipital</u> (Fig. 58 B) este provocat de o lovitură pe tendonul tricepsului, imediat deasupra olecranului; rezultă contracția mușchiului și extensia cotului. Nervul periferic este radialul.

Acestea sînt cîteva din reflexele proprioceptive cu centrul în măduva spinării, avînd importanță în autoapărare, menținerea

poziţiei corpului, redresarea rapidă a echilibrului, motiv pentru care se realizează cu un număr minim de neuroni.Studiul lor constituie un test pentru starea generală a organismului şi în particular a aparatului locomotor.Modul lor de producere cît şi arcurile reflexe, sînt indicate în Fig.57,58.

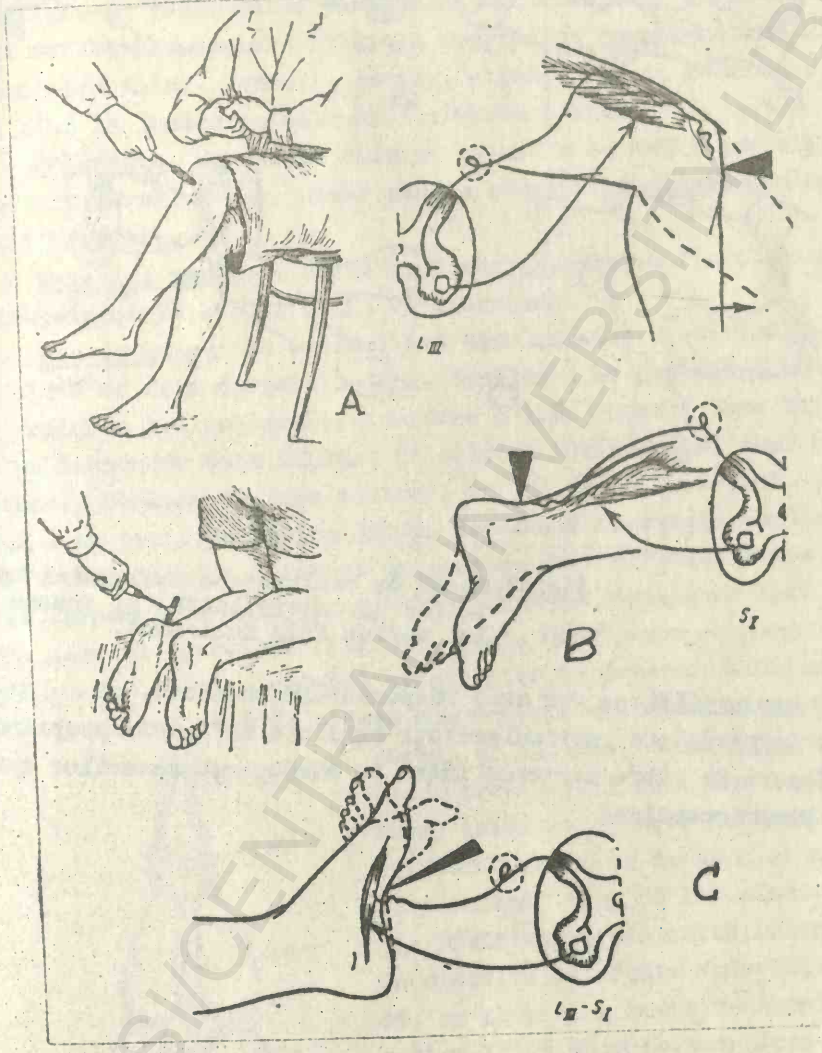


Fig.57.Provocarea reflexelor rotulian(A),achilian(B) şi plantar(C) şi schema arcurilor reflexe (Din Kullanda).

B.C.U. „M. EMINESCU" - Şl BIOLOGIE

BCU CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

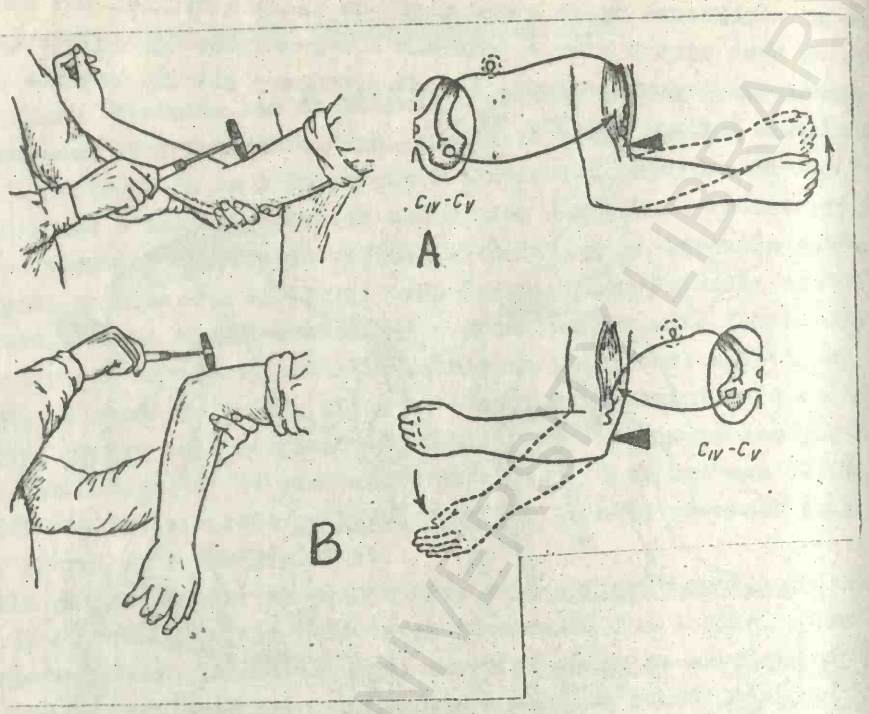


Fig.58. Modul de explorare a reflexului bicipital(A) şi tricipital(B) şi schema arcului reflex.(Din Kullanda).

Recomandări: se vor nota răspunsurile obţinute.

Intrebări: Ce particularităţi prezintă reflexele proprioceptive? Ce tipuri de fibre nervoase intră în alcătuirea arcurilor reflexelor proprioceptive?

BCU IASI/CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

FIZIOLOGIA ENCEFALULUI.

38. EXPERIENTA LUI SECENOV.

Prin această experienţă se demonstrează rolul fiziologic al nucleului visceromotor al nervului vag(nucleul dorsal al vagului), localizat în vecinătatea planşeului ventriculului al IV-lea.Din acest nucleu iau naştere filetele vegetative parasimpatice ale vagului pentru inimă, bronhii, esofag, stomac, ficat, pancreas, intestin pînă la jumătatea colonului transvers etc.

Principiu: se excită chimic(cristale de NaCl) nucleii de origine ale nervului vag, urmărindu-se efectul produs asupra activităţii cardiace.

Material necesar: trusă de disecţie;soluţie fiziologică;cronometru;eter;cristale de NaCl; vată;broască.

Mod de lucru: se anesteziază uşor cu eter o broască, se aşează pe plută cu faţa dorsală în sus, după care se descoperă encefalul în regiunea lui bulbară(vz.lucrarea 37).Se acoperă zona bulbului cu un tampon de vată îmbibat în soluţie fiziologică, după care se întoarce broasca cu faţa ventrală în sus şi se descoperă inima, fără a se secţiona pericardul.Se determină frecvenţa cardiacă normală a broaştei.Se întoarce broasca cu faţa dorsală în sus, se ridică tamponul de vată şi se aplică cîteva cristale de NaCl în zona sinusului romboidal (Fig.59), peste care punem un tampon de vată pentru a evita căderea cristalelor.Se determină din nou frecvenţa cardiacă timp de cîteva minute.Prin excitarea chimică a n. dorsal al vagului, frecvenţa cardiacă scade treptat, în cele din urmă(9-10 minute) inima se opreşte în diastolă.Se înlătură cristalul de NaCl şi se spală zona bulbară timp de 1-2 minute cu soluţie fiziologică izotonică.Determinînd la diferite intervale frecvenţa cardiacă, se observă o revenire treptată la contracţiile normale.Revenirea are loc relativ mai lent(aproximativ 12 minute).

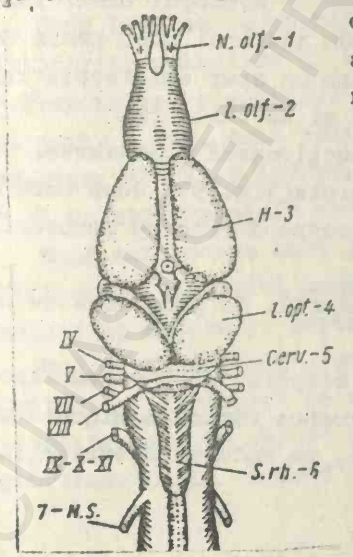


Fig.59.Creierul la broască.1-nerv olfactiv;2-lob olfactiv;3-emisferele cerebrale;4-lobi optici;5-cerebelul 6-sinus romboidal;7-nerv spinal.

Recomandări:se va reprezenta grafic modificarea frecvenţei cardiace prin excitarea chimică a nucleului n.vag şi revenirea frecvenţei cardiace în urma înlăturării excitantului, indicînd pe ordonată frecvenţa cardiacă iar pe abscisă-timpul în minute.

Intrebări:Ce altă variantă experimentală ar putea fi folosită, pentru evidenţierea rolului nervului vag asupra inimii?Ce parametri cardiaci afectează n.vag?

39.CONSECINTELE EXTIRPARII UNOR PARTI ALE ENCEFALULUI.

A.Extirparea emisferelor cerebrale la broască.

După extirparea emisferelor cerebrale, capacităţile funcţionale ale animalului, depind de gradul de dezvoltare a scoarţei cerebrale.Astfel o pisică decorticată este capabilă aproape de orice tip de mişcare, chiar de a evita obstacole din calea sa; totuşi mişcările spontane îi lipsesc aproape cu desăvîrşire şi adesea stă ore în şir într-un loc.

Principiul lucrării: se extirpă emisferele cerebrale, după care se urmăreşte comportarea animalului faţă de diferiţi excitanţi din mediu.

Material necesar:broaşte,instrumentar de disecţie, eter,vată, acvariu,plan înclinat,bucăţi de carne.

Mod de lucru:se anesteziază uşor broasca.Se face o incizie mediană longitudinală a tegumentului din regiunea capului (de la planul ochilor pînă la planul timpanelor).Se face o incizie uşoară a cutiei craniene pe aceeaşi linie cu ajutorul bisturiului, avînd grijă de a nu pătrunde adînc.Cu ajutorul unei pense se ridică oasele fronto-parietale, după care ne apar emisferele cerebrale. Oasele se desprind bucată cu bucată şi se înlătură.

Cu ajutorul unui bisturiu se secţionează transversal creierul imediat posterior emisferelor cerebrale(Fig.59), după care se extirpă zona anterioară secţiunii.Se acoperă rana cu lambourile pielii.

După trecerea influenţei operatorii, se pune broasca pe masă şi se fac următoarele observaţii:

1)-De notat poziţia normală a corpului şi a mişcărilor respiratorii.Fără un excitant extern, broasca rămîne nemişcată(unele mici mişcări care pot apare uneori, se datorează excitaţiilor plecate de la nivelul rănii).

2)-Aplicarea unui excitant (ciupirea extremităţilor), produce mai mult decît o simplă reacţie reflexă, observată la animalul spinal;broasca poate efectua mişcări complexe, să sară sau să se tîrască.Dacă o punem pe masă în poziţie întoarsă, ea îşi reia imediat poziţia normală.Intr-un bazin cu apă va înnota ca şi o broască normală, în timp ce o broască spinală se scufundă la fund.

3)-Se pune animalul pe un plan înclinat.Se constată că el îşi menţine echilibrul şi chiar încearcă să se urce pe acest plan.Dacă punem în gura animalului o bucată de carne, face mişcări normale de deglutiţie.Dacă carnea este pusă lîngă gura animalului, ea nu este luată şi înghiţită.

Toate aceste observaţii ilustrează că o broască fără emisfere cerebrale, se comportă în toate privinţele ca şi o broască normală, cu excepţia lipsei mişcărilor spontane.

Intrebări:Care sînt efectele extirpării emisferelor cerebrale la broască?

B.Distrugerea unilaterală a cerebelului la broască.

Funcţiile cerebelului sînt legate cu precădere de activitatea motorie a organismului, deaceea gradul său de dezvoltare depinde de nivelul de perfecţiune a activităţii motorii a organismului.La broască cerebelul se prezintă sub forma unei benzi transversale de ţesut nervos, localizat la marginea anterioară a bulbului.Cerebelul funcţionează numai în asociaţie cu activitatea motorie iniţiată în altă parte a sistemului nervos central.

După lezarea cerebelului se observă în primul rînd tulburări în mişcările voluntare şi involuntare cît şi în funcţia de echilibru.Coordonarea mişcărilor voluntare sau involuntare, iniţiate în altă parte a SNC, este realizată de cerebel printr-un mecanism feed-back, el fiind informat atît de „intenţiile" zonelor motorii, cît şi de performanţele realizate de efectori.

După extirparea unei jumătăţi a cerebelului, se observă o modificare a tonusului muşchilor de aceeaşi parte a corpului şi o tendinţă de cădere pe partea operată.

Mod de lucru:după deschiderea cutiei craniene, se secţionează longitudinal cerebelul cu un bisturiu fin şi se extirpă o jumătate. Se lasă broasca în repaos 5 minute, după care se supraveghează comportamentul.Se observă îndoirea capului şi a corpului de partea

leziunii.Mişcările nu se fac în linie dreaptă ci în cerc; cînd animalul sare, uneori se răstoarnă şi cade pe spate.In apă deseori se observă învîrtirea animalului în jurul axului longitudinal al corpului.

Recomandări: se vor nota tulburările observate.

Intrebări: Care sînt legăturile cerebelului cu alte etaje ale SNC? Care este rolul cerebelului la mamifere?

C.Decerebrarea animalului-Rigiditatea de decerebrare.

Decerebrarea animalului se realizează printr-o secţiune în plan frontal a trunchiului cerebral, ce trece printre cele 2 perechi de tuberculi cvadrigemeni.Prin această secţiune se înlătură influenţele inhibitoare, exercitate de către ganglionii bazali şi scoarţa cerebrală, asupra ariei reticulate facilitatoare, ceea ce determină o hiperactivare intrinsecă a ariei reticulate facilitatoare.Impulsurile activatoare sînt transmise măduvei spinării, cauzînd rigiditatea musculară, denumită rigiditatea de decerebrare. Indeosebi muşchii extensori şi în mai mică măsură muşchii flexori, sînt menţinuţi într-o stare de contracţie tonică.Animalul poate sta în picioare, păstrîndu-şi corpul contra gravitaţiei;poate efectua unele mişcări de ajustare a echilibrului, dar pentru manifestarea completă a echilibrului, este necesară integritatea completă a mezencefalului.

Creşterea tonusului postural în rigiditatea de decerebrare, rezultă din excitarea sistemului gama al fusului neuromuscular şi nu din activarea directă a alfa motoneuronilor medulari.

Echipament necesar:dispozitiv de fixare a capului animalului; răzuşe;foarfece;bisturiu;pense;tinctură de iod;eter;gobolan.

Mod de lucru:se anesteziază cu eter gobolanul, după care fixă capul animalului în dispozitivul de fixare a capului;se depilează tegumentul din zona capului.Ungem cu tinctură de iod, secţionăm tegumentul pe linia mediană şi îndepărtăm marginile secţiunii cu pense hemostatice.Curăţim cu o răzuşă oasele exteriorizate ale craniului, după care facem o fereastră în cutia craniană(oasele parietale) cu ajutorul unei freze dentare.Indepărtăm cu atenţie duramater.Cu ajutorul unui bisturiu fin, secţionăm în plan frontal trunchiul cerebral la nivel intercolicular;bisturiul se introduce pînă la baza trunchiului cerebral, după care îl deplasăm

stînga-dreapta.Trebuie să avem grijă de a evita secţionarea arterei cerebrale.Eventualele hemoragii le oprim prin tamponări cu vată.

Eliberăm capul animalului şi observăm comportarea lui.Dacă este aşezat pe picioare, membrele susţin greutatea corpului.De observat opistotonusul caracteristic:contracţia muşchilor cefei cu ridicarea extremităţii cefalice, membrele întinse, coloana vertebrală curbată.Reflexul rotulian şi alte reflexe sînt exagerate, în schimb reflexele de redresare sînt abolite.

Pe animalul decerebrat se pot studia cu uşurinţă reflexele tonice labirintice şi cervicale, ultimele avînd punctul de plecare în proprioceptorii musculaturii extensoare a cefei.Răsturnarea forţată a capului animalului înapoi, măreşte tonusul extensorilor membrelor anterioare şi micşorează tonusul celor posterioare. Dimpotrivă, coborîrea capului în jos, scade tonusul membrelor anterioare şi măreşte tonusul celor posterioare.Intoarcerea capului la dreapta, duce la creşterea tonusului membrului anterior şi posterior drept, cu scăderea tonusului în membrele simetrice.Intoarcerea capului spre stînga, cauzează modificări inverse ale tonusului.

Modificări, ca cele descrise mai sus, apar în urma secţiunii trunchiului cerebral la orice nivel între colicului superiori şi nucleii vestibulari.

Lucrînd în condiţii sterile, animalul operat poate fi menţinut în viaţă un timp mai îndelungat.

Efectele decerebrării se observă mai evident la pisică.

Recomendări: se va reprezenta schematic poziţia membrelor animalului decerebrat, după modificarea poziţiei capului.Pe baza observaţiilor efectuate, se vor trage concluzii.

Intrebări:Cum pot afecta tonusul muscular gama motoneuronii? Care este rolul nucleului Deiters din bulb şi a formaţiunii reticulate facilitatoare descendente în apariţia rigidităţii de decerebrare?

4o. EFECTELE MOTORII PRIN EXCITAREA EMISFERELOR CEREBRALE.

Fritsch şi Hitzig(1870) au descoperit că excitarea electrică a anumitor zone corticale, provoacă mişcări ale grupelor musculare în partea opusă a corpului.Aceste zone corticale sînt considerate arii motorii.Cercetările ulterioare au stabilit localizarea corticală a ariilor motorii, proiecţia corpului pe aceste zone(somatotopia) cît şi dezvoltarea filogenetică a funcţiei motorii, care a atins punctul maxim la om.

Din punct de vedere funcţional aria motorie primară este structura indispensabilă executării actelor telecinetice, denumite şi voluntare sau intenţionale.Prin excitări de mică intensitate şi strict localizate, pot apare contracţii ale unui singur muşchi.Excitarea ariei 4 cu un curent faradic de intensitate crescîndă, determină o generalizare tot mai mare a răspunsului.La un moment dat apar secuse musculare succesive (epilepsie locală), iar prin mărirea în continuare a intensităţii excitantului, pot apare contracţii tonice generalizate(spasm convulsiv).

In afară de aria motorie primară, există o arie motorie secundară, reprezentată în apropierea scizurii lui Sylvius(Penfield 1950). Pe faţa mediană a emisferei, anterior zonei de proiecţie a talpei piciorului, există o a treia zonă motorie, organizată la fel somatotop, care acţionează atît prin intermediul ariei primare, cît şi în mai mică măsură-direct asupra periferiei.Localizarea ariilor motorii şi a altor arii, la cîteva specii de vertebrate, este indicată în Fig. 60.

Material necesar: pisica;suport pentru fixat capul animalului; eter,foarfece;bisturiu;trepan;tinctură de iod;electrozi de excitare;stimulator;cleşte de oase;soluţie fiziologică încălzită.

Tehnica: se anesteziază cu eter animalul, se fixează capul în suportul de fixare(poate fi folosit aparatul stereotaxic), se depilează tegumentul din zona capului, după care se dezinfectează cu tinctură de iod şi se secţionează tegumentul pe linia mediană a capului.Se desprinde capătul muşchiului temporal, pentru a se evidenţia oasele de pe 1/2 a cutiei craniene şi anume oasele deasupra porţiunii posterioare a lobului frontal şi respectiv porţiunea anterioară a lobului parietal.Se trepanează craniul deasupra osului parietal şi se măreşte treptat orificiul cu ajutorul cleş-

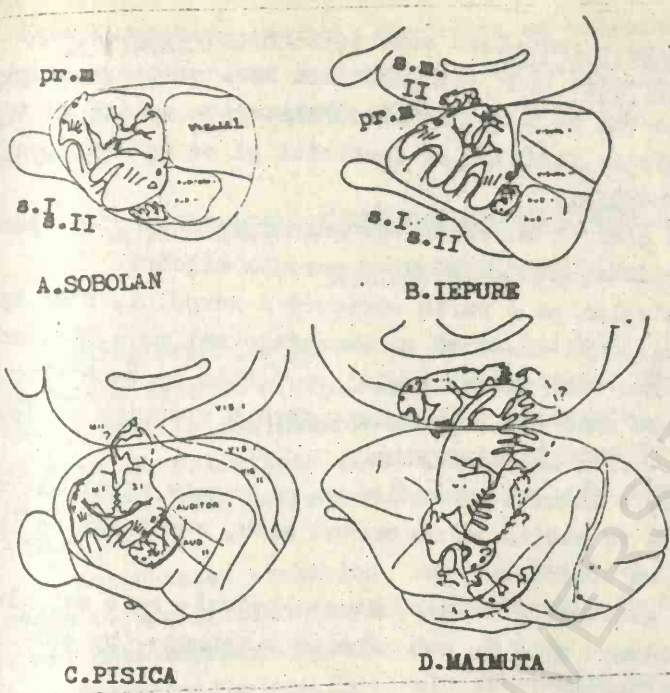


Fig.60.Schemele emisferelor cerebrale la speciile indicate, care arată localizarea ariilor motorii primare(M I) şi secundare(M II) ,a ariilor senzoriale somatice(SI, SII).şi a ariilor primare şi secundare vizuale şi auditive. pr.m.=precentral motor;s.m.II=M II. Orientarea proiecţiei suprafeţei corpului, arată un homunculus.Fiecare schiţă corespunde cu suprafaţa laterală a emisferei;porţiunea superioară a fiecărei schiţe, corespunde cu suprafaţa mediană(Din Woolsey,C.N.).

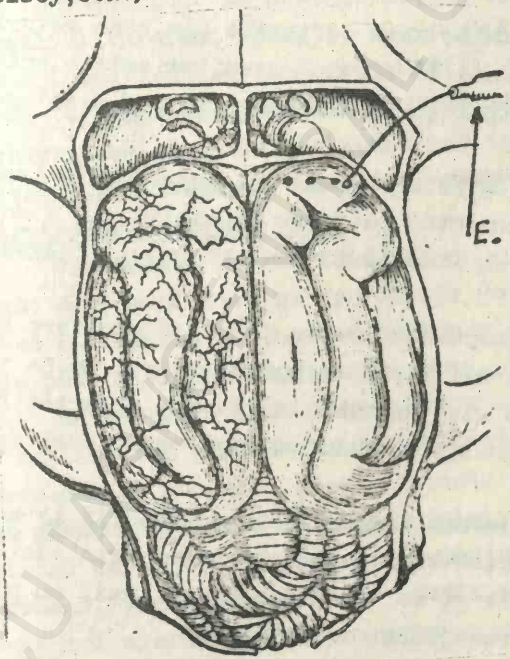


Fig.61.Creier de pisică exteriorizat.Sînt indicate punctele, a căror excitare,determină contracţia diferitelor grupe musculare. E=electrod de excitare.

...ui de oase, oprind eventualele hemoragii cu ceară, pînă cînd exteriorizăm în întregime aria emisferei din zona şanţului cruciform.Cu un foarfece fin se secţionează duramater.Se aplică un tampon, îmbibat în soluţie fiziologică încălzită şi se aşteaptă oprirea completă a hemoragiei.

Se lasă liber membrul anterior şi posterior de partea opusă emisferei exteriorizate, pentru a putea executa mişcări.

Se tunde animalul pe o parte oarecare a corpului, unde aplicăm electrodul indiferent-electrod cu suprafaţa mai mare.Electrodul explorator, sub forma unui fir de argint cu o bilă la capăt(Fig.61), se aplică în diverse zone ale creierului, fără a comprima cortexul. Se racordează electrozii la stimulator.

La pisică zonele motorii sînt dispuse pe ambele părţi ale şanţului cruciform. Se va excita cu un curent slab, sub formă de impulsuri succesive.Se va observa:

1)-pragul de excitare pentru substanţa cenuşie este mai mic comparativ cu substanţa albă de sub substanţa cenuşie, pe care o înlăturăm cu un bisturiu;

2)-perioada latentă este mai mare după excitarea substanţei cenuşii, comparativ cu aplicarea stimulului direct pe substanţa albă;

3)-excitarea unei anumite arii corticale din zona motorie, cauzează o mişcare coordonată la nivelul anumitor articulaţii: contracţia muşchilor agonişti şi inhibiţia reciprocă a antagoniştilor;

4)-creşterea intensităţii excitantului, determină o iradiere la nivelul scoarţei, determinînd intrarea în activitate a unui număr mai mare de muşchi;excitanţii foarte puternici, cauzează convulsii generalizate.

In locul excitării unipolare, se va folosi o excitare bipolară, distanţa dintre electrozi fiind de aproximativ 1 mm.Se va compara gradul de iradiere a excitantului la nivelul scoarţei,în cele 2 moduri de excitare a scoarţei, odată cu mărirea intensităţii excitantului.

Recomandări: se va desena harta punctelor motorii la animalul studiat.Se vor descrie efectele motorii obţinute, prin excitarea diferitelor zone corticale şi se vor formula concluzii cu privire la natura fiziologică a reacţiilor observate.

Intrebări de control: Care sînt caracteristicile morfologice ale zonelor motorii? Ce formă are homunculus motor? Ce funcţii îndeplinesc neuronii motori corticali comparativ cu motoneuronii spinali?

41. INREGISTRAREA BIOPOTENTIALELOR CREIERULUI LA OM- ELECTROENCEFALOGRAFIA.

Inregistrările electrice de pe suprafaţa creierului sau de pe suprafaţa externă a craniului, demonstrează prezenţa unei activităţi electrice continui la nivelul creierului. Atît intensitatea cît şi tipul de activitate electrică înregistrată, depind în mare măsură de excitarea generală a creierului prin sistemul reticulat activator.

Activitatea electrică, care prezintă un voltaj foarte redus, poate fi amplificată în măsură suficientă cu ajutorul aparatului numit electroencefalograf.

Potenţialele electrice ale creierului pot fi derivate de pe un craniu intact, electrozii fiind amplasaţi pe pielea capului; ele se transmit prin ţesuturile conducătoare ale capului spre suprafaţa tegumentului, în acelaşi mod în care potenţialele generate de muşchiul cardiac, ajung în tegumentul cutiei toracice şi a extremităţilor. Inregistrarea activităţii electrice de pe suprafaţa tegumentului capului, poartă denumirea de electroencefalogramă (EEG). Activitatea electrică înregistrată cu ajutorul electrozilor de derivaţie, amplasaţi pe suprafaţa cortexului descoperit, se numeşte electrocorticogramă (ECoG).

Fenomenele bioelectrice de pe o EEG la om se prezintă sub forma unor unde periodice şi aperiodice de frecvenţă diferită. Se deosebesc cîteva tipuri de oscilaţii periodice (unde ale creierului) ale potenţialului: unde alfa, beta, teta, delta.

Undele alfa sînt, unde ritmice cu o frecvenţă de 8-13/sec şi o amplitudine pînă la 100 μV (obişnuit 50 μV). Se găsesc pe EEG persoanelor normale, care, cu toate că se află în stare de veghe, se găsesc în repaos fizic şi mintal, cu ochii închişi. Se pot înregistra cel mai uşor din zona occipitală, dar se pot găsi pe EEG normale, înregistrate de pe zonele parietale şi frontale. In timpul somnului ele dispar în întregime, [illegible] stare de [illegible]

centrarea atenţiei spre un tip specific de activitate mintală, sînt înlocuite prin unde asincrone de frecvenţă mare şi voltaj redus.

Undele beta au o frecvenţă de 14-35 c/sec şi o amplitudine pînă la 25 μV.Se înregistrează cel mai frecvent de pe zonele parietale şi frontale ale craniului.Sînt de 2 tipuri: beta I şi beta II. Undele beta I au o frecvenţă aproximativ dublă undelor alfa şi sînt afectate de activitatea mintală în aceeaşi manieră ca şi undele alfa- înlocuirea lor cu unde asincrone şi de voltaj redus. Undele beta II apar în activarea intensă a SNC sau în tensiuni.

Undele teta au o frecvenţă de 4-7 c/sec şi o amplitudine pînă la 150μV.Apar în zonele parietale şi temporale la copii, iar la adulţi în stări emoţionale îndeosebi în deziluzii şi frustrări.

Undele delta cuprind toate undele de pe EEG sub 3,5 c/sec avînd uneori o frecvenţă de 1 c/2-3 secunde.Apar în timpului somnului profund şi în stări patologice ale creierului(Fig.62).

Deci,formele descrise de activitate bioelectrică ritmică,apar în diferite zone ale emisferelor cerebrale şi depind de starea lor funcţională.La majoritatea oamenilor în stare de veghe în lipsa excitanţilor puternici, se înregistrează ritmul alfa, cu precădere în zona occipitală şi parietală.Sub acţiunea oricărui excitant nou, apare reflexul de orientare, care se manifestă pe EEG la om, sub formă de desincronizare(activare) şi inhibarea ritmului alfa (Fig.63).

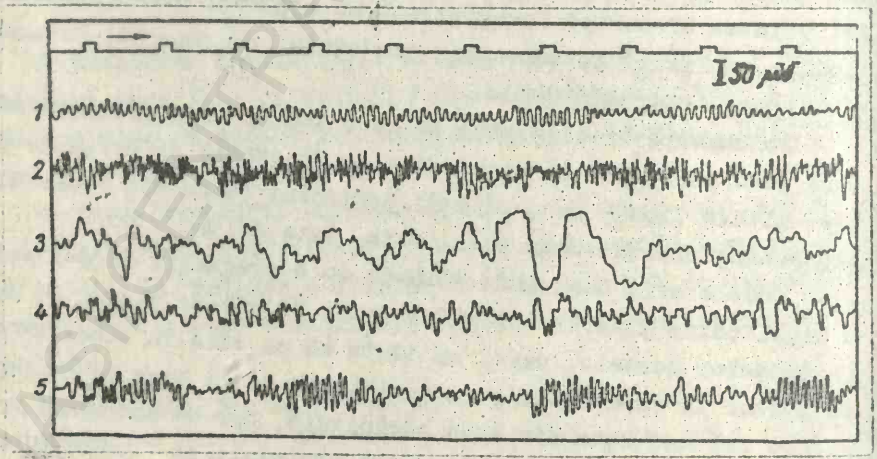


Fig.62. Ritmurile de bază ale scoarţei cerebrale la om. 1-ritm alfa;2-ritm beta;3-ritm delta;4-ritm teta; 5-fuseuri sau fusuri.Sus-timpul 1 sec.

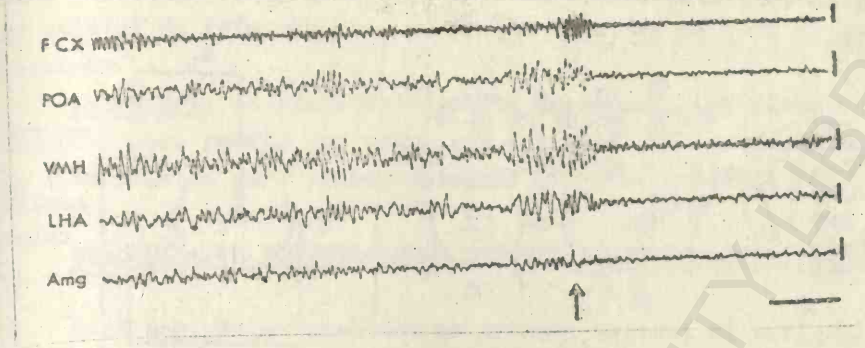


Fig.63.EEG înregistrată din zone subcorticale la un şobolan somnoros.FCX-cortexul frontal;POA-area preoptică;VMH-nucleul ventromedian hipotalamic;LHA-area hipotalamică laterală; Amg-amigdala.Desincronizarea EEG produsă de un zgomot puternic (săgeata).Calibrarea 100 μV, 1 sec.

Echipament necesar: electroencefalograf; cameră ecranată;fotofonostimulator; cască cu electrozi; pastă specială pentru electrozi.

Mod de lucru:se preferă ca înregistrarea să se efectueze în camere ecranate, care ecranează acţiunea cîmpurilor electromagnetice asupra obiectului.

Este important ca între electrozii de derivare şi tegument, să existe o rezistenţă redusă.Dînd părul la o parte, se degresează tegumentul cu alcool.Aplicăm pe electrozi o pastă specială (în lipsa pastei se folosesc tampoane de vată îmbibate cu soluţie fiziologică) şi se fixează pe tegument cu ajutorul cureluşelor. Rezistenţa electrozilor nu trebuie să depăşească 10-15 KΩ.

Schema de amplasare a electrozilor pe capul pacientului, depinde de numărul şi caracterul proceselor înregistrate simultan. Una din modalităţile de dispunere a electrozilor este arătată pe Fig.64.Electrodul indiferent se aplică pe lobulul urechii(Fig.65). Se racordează electrozii la comutatorul electrozilor, cu ajutorul căruia putem combina în diferite variante amplificatorul cu electrozii(Fig.65).

Pentru interpretarea corectă a EEG, este necesară cunoaşterea artefactelor posibile generate de reţeaua de alimentare,mişcarea electrozilor,mişcările ochilor,a pielii capului,strîngerea maxilarului,mişcări de mimică etc.De aceea înainte de experienţă, se

înregistrează artefactele posibile, pentru recunoaşterea lor ulterioară.

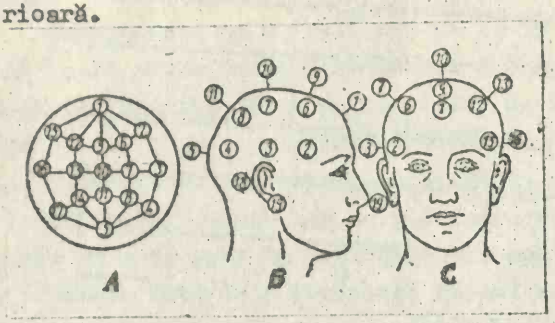


Fig.64.Schema de dispunere a electrozilor pe capul persoanei examinate.

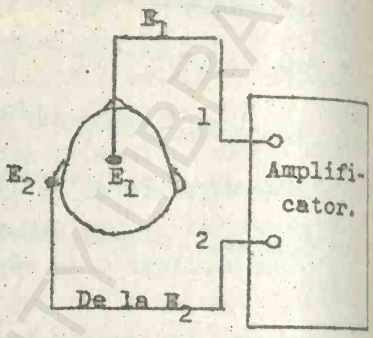


Fig.65.Dispunerea electrozilor şi derivarea electroencefalogramei.E2-electrod indiferent;E_1-electrod diferent.

1)-Se fixează pe electroencefalograf diapazonul frecvenţelor înregistrate în limitele 2-75 Hz.

2)-Se conectează galvanometrele de înregistrare şi se observă comportarea peniţelor înscriitoare;se fixează amplificarea necesară (după amplitudinea deplasării peniţelor înregistratoare).

3)-Se conectează mecanismul de derulare a panglicii de hîrtie cu viteza de 1,5 cm/sec.

4)-Deplasînd comutatorul pe calibrare, se înregistrează calibrarea la amplificarea şi sensibilitatea aparatului în momentul respectiv.

5)-Se comutează aparatul pe înregistrarea biopotenţialelor.

6)-Se pune în mişcare panglica de hîrtie şi se înregistrează artefactele.

7)-Se înregistrează EEG de fond-subiectul stînd cu muşchii relaxaţi şi ochii închişi, se observă după cîteva minute apariţia pe EEG a ritmului alfa.

8)-Se va observa inhibarea ritmului alfa după deschiderea ochilor.

9)-De observat influenţa excitării luminoase(stimul luminos intermitent-SLI-) asupra EEG.

10)-După relaxarea muşchilor şi închiderea ochilor, se înregistrează EEG.După ce apar undele alfa, se cuplează excitantul sonor (sunet de la un generator de ton de 600Hz) şi se observă modificările ce apar.

11)-Se calibrează din nou înregistrarea.

Recomandări: se vor prelucra curbele înregistrate.Se va determina frecvenţa,forma undelor;modificarea ritmului alfa.Se va ataşa la caietul de referate cîte un fragment de EEG de fond şi după acţionări.

Intrebări: ce stare funcţională caracterizează ritmul alfa? Ce modificări pe EEG vor apare sub acţiunea unui excitant dureros? Ce este reacţia de " desincronizare" şi în ce condiţii apare?

42.DERIVAREA POTENTIALELOR EVOCATE DE PE SCOARTA CEREBRALA

Dacă aplicăm un excitant pe oricare segment al sistemului aferent: receptor,nerv,calea de conducere sau centrul subcortical-în scoarţa emisferelor cerebrale apar ca răspuns potenţiale bioelectrice.Răspunsurile care apar în diferite zone corticale, au o configuraţie şi o perioadă latentă diferită.Pe fig.66 sînt reprezentate potenţialele evocate, care apar în partea rostrală a cortexului cerebral la pisică, ca urmare a excitării n. sciatic. Răspunsurile corticale, care au perioada latentă cea mai scurtă şi o amplitudine evidentă, se numesc răspunsuri primare.Ele apar în acea porţiune corticală, unde se termină ultimul neuron al căii aferente specifice.Pe aceste căi excitaţia ajunge la nivelul scoarţei în cel mai scurt timp, ceea ce explică perioada latentă mică. Folosind procedeul potenţialelor evocate, s-a putut delimita zona de proiecţie corticală a diferitelor sisteme aferente(Fig.60).Se consideră că zonele corticale, la nivelul cărora se pot înregistra răspunsurile primare, ca urmare a excitării diferitelor sisteme aferente(somatice, auditive, vizuale,etc), reprezintă capetele centrale ale analizatorilor respectivi.In prezent această metodă se aplică în clinică în scopul diagnosticării sistemelor aferente.

Răspunsurile care apar în alte zone corticale şi care se caracterizează printr-o perioadă latentă mult mai mare, sînt potenţiale transmise prin căi nespecifice, plurisinaptice.Aceste căi pot trece prin diferite structuri subcorticale:formaţia reticulată a trunchiului cerebral, diferiţi nuclei talamici,etc.

Echipament necesar:instalaţie pentru derivarea potenţialelor evocate (amplificator de curent alternativ,oscilograf catodic,stimulator), electrozi corticali de derivare; electrozi pentru exci-

tarea nervului;soluţie Ringer pentru homeoterme;cloraloză sau nembutal;animal(pisica sau şobolan).

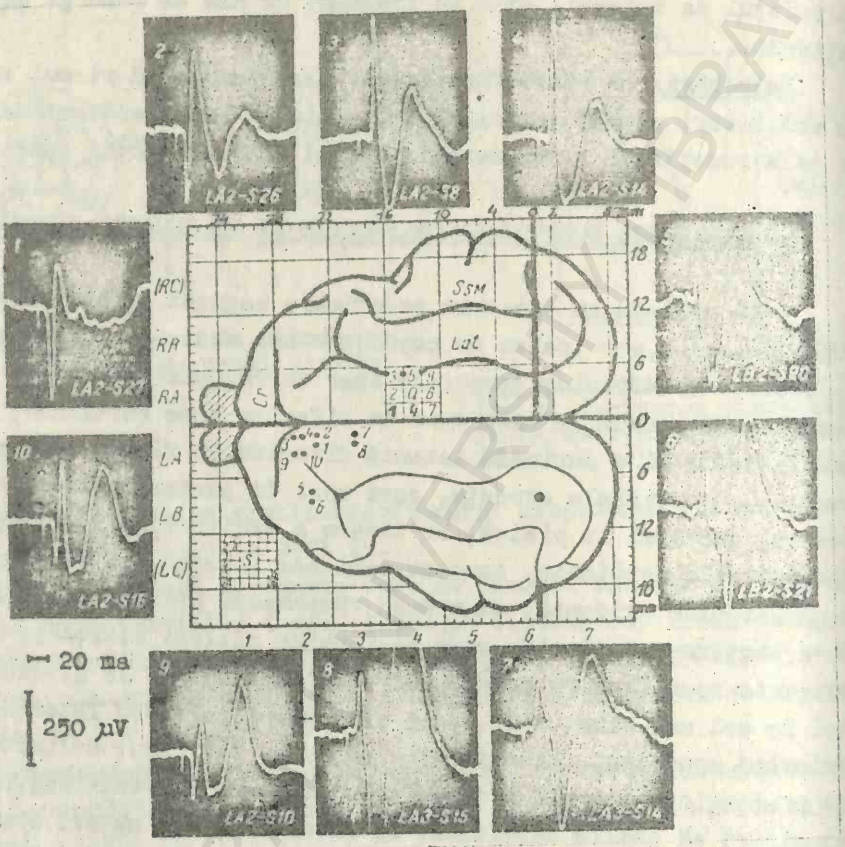


Fig.66.Potenţialele evocate, apărute în zona rostrală a scoarţei cerebrale ca răspuns la stimularea n.sciatic.1-2 şi 9-10-răspunsuri primare;3-8-diferite forme de răspunsuri secundare.

Tehnica:se ansambleazâ instalaţia(Fig.28).Stimulatorul se sincronizează cu oscilograful.Electrodul de derivare se racordează la intrarea în amplificator.Se racordează ieşirea de la amplificator cu intrarea în oscilograf.Desfăşurarea spotului pe ecranul oscilografului-5-6mm/10 msec.

In timp ce se încălzesc aparatele, se pregăteşte animalul. După anestezierea animalului(cloraloza 60 mg/Kg; nembutal 40 mg/kg i.m.), se fixează capul într-un dispozitiv de fixare a capului.Se secţionează pe linia mediană învelişurile moi ale craniului.Se depărtează tegumentul şi cu o răzuşă se desprinde m.te-

poral de pe o parte a craniului.Se opreşte hemoragia cu tampoane de vată.Cu ajutorul unui trepan, se trepanează craniul în zona sa rostrală .Cu un ciupitor de oase se măreşte orificiul trepanat încît acest orificiu să se găsească în spatele circumvoluţiei sigmoide şi să fie vizibil şanţul sigmoid şi capătul anterior al şanţului lateral(vz.Fig.66, pătratele LA-2 şi LB-2).Se înlătură duramater şi se umectează periodic suprafaţa corticală cu soluţie fiziologică încălzită(37-38°C).

Se descoperă n. sciatic de pe membrul posterior opus emisferei descoperite.Se fixează electrodul indiferent(ac de oţel, sau alt metal ascuţit şi argintat) într-un sinus osos (lovind cu un ciocan chirurgical, îl introducem în sinus la o adîncime de cel mult 3-5 mm).Nervul sciatic îl aplicăm pe electrodul de excitare, pe care îl conectăm cu stimulatorul.Se excită n. sciatic cu excitanţi unici.

In timp ce excităm n. sciatic, se deplasează electrodul de derivare pe suprafaţa cortexului în zona mediană a circumvoluţiei sigmoide posterioare şi aflăm zona din care se culeg răspunsurile primare(Fig.66).Se cercetează zona corticală din apropierea zonei răspunsurilor primare, adică zonele unde apar reacţiile secundare.

Recomandări: Se va desena schema instalaţiei.Se va desena forma răspunsurilor observate, harta lor de răspîndire pe suprafaţa scoarţei, configuraţia şi polaritatea diferitelor faze.

Intrebări de control: Care sînt căile de conducere ale impulsurilor, ce dau naştere potenţialelor evocate prin excitarea nervului sciatic?

43.PROPRIETATILE POTENTIALELOR EVOCATE PRIMARE SI SECUNDARE ALE SCOARTEI EMISFERELOR CEREBRALE.

Dacă comparăm între ele diferite reacţii bioelectrice, care apar în diferite zone corticale, ca răspuns la acţiunea unui excitant oarecare, se observă că o categorie de reacţii au perioada latentă cea mai scurtă.Aceste reacţii diferă de toate celelalte şi prin aceea că apar în zone precise şi strict delimitate.Ele prezintă o configuraţie tipică, o durată caracteristică a fazelor separate şi o stabilitate mare la acţiunea excitanţilor de frecvenţă crescîndă.Aceste reacţii, ce apar prima dată în cortexul cerebral, ca răspuns la acţiunea excitentului, au fost denumite răspunsuri(potenţiale evocate) primare(Fig.67).La diferite sisteme

senzoriale , perioada latentă a răspunsurilor primare diferă.Astfel prin excitarea n.sciatic se pot colecta răspunsuri primare cu o perioadă latentă de 10-12 msec; în urma stimulării nervilor plexului brahial-8-9 msec, iar după un stimul luminos puternic-5 msec.

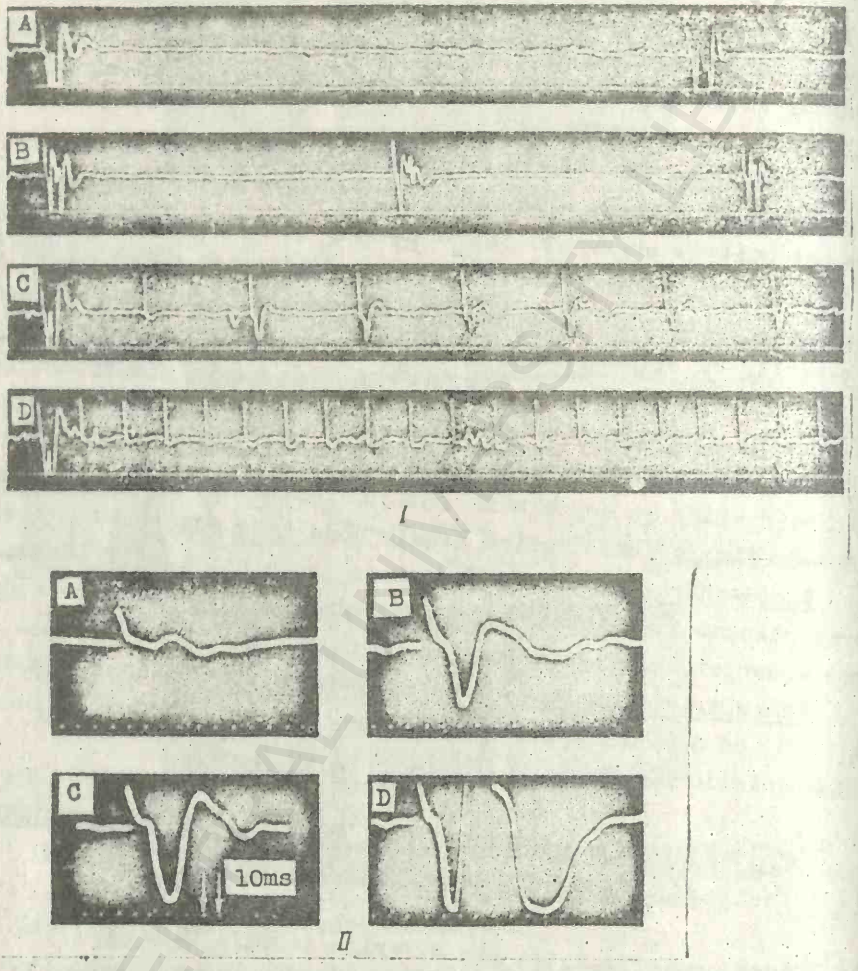


Fig.67.Compararea proprietăţilor răspunsurilor primare şi secundare ale scoarţei emisferelor cerebrale la pisică. I:A-D-răspunsuri din aria somestezică I la excitarea n. sciatic cu frecvenţă crescîndă(A-0,5Hz;B-1Hz;C-4 Hz;D-8Hz). II-răspunsurile aceleiaşi zone corticale la excitarea n. sciatic cu excitanţi de intensitate crescîndă.Intensitatea excitantului creşte de la A la D.

Răspunsurile primare încep totdeauna cu faza pozitivă, care durează 10-12 msec după care urmează faza negativă.Mărimea fazei pozi-

tive depinde de felul şi modul de aplicare al excitantului, numărul sinapselor, gradul narcozei,etc.In privinţa originei sale, faza pozitivă reprezintă un potenţial electrotonic local,derivat de pe straturile superficiale ale scoarţei cerebrale, în momentul sosirii impulsurilor aferente spre zona elementelor corticale profunde.Faza pozitivă poate fi privită ca un test al caracterizării stării funcţionale ale straturilor corticale profunde(III,IV). Faza negativă care urmează, reflectă activarea neuronilor din straturile corticale superficiale,spre care sosesc impulsurile prin colateralele axonice ascendente ale neuronilor piramidali din straturile corticale profunde.Deci, faza negativă caracterizează starea funcţională a stratului dendritic cortical(I,II).

La un animal cu narcoză mai superficială, se menţine activitatea electrică spontană a creierului, ceea ce îngreuiază diferenţierea pe acest fond a potenţialelor evocate.Prin mărirea narcozei, activitatea spontană apare sub forma unor unde rare de amplitudine joasă, iar potenţialul evocat apare sub forma bifazică.La o narcoză mai puternică, activitatea spontană diminuează şi mai mult, iar potenţialul evocat devine monofazic, pozitiv.

Reacţiile secundare se caracterizează printr-o variabilitate mai mare.Unele încep cu faza pozitivă, altele-cu faza negativă. Ele apar atît în zona de proiecţie primară, cît şi în alte zone corticale.Au perioada latentă mai mare.Unele reacţii secundare au o perioadă latentă numai cu 3-4 msec mai mare comparativ cu răspunsurile primare, în timp ce alte răspunsuri secundare au o perioadă latentă de 80-100 msec.Sînt mai puţin stabile la excitări repetate şi uneori chiar la o frecvenţă de 1-2 Hz nu apar după fiecare excitant.

Cercetările recente acordă o mare importanţă răspunsurilor secundare, deoarece se consideră că apariţia lor, reflectă diferite etape de prelucrare a informaţiei senzoriale.Cunoscînd timpul apariţiei reacţiei secundare cît şi zonele corticale unde apar, putem să ne formăm o imagine cu privire la zonele corticale şi ordinea lor de intervenţie în prelucrarea informaţiei senzoriale şi formarea reacţiilor de răspuns.

Echipament necesar: instalaţia pentru înregistrarea potenţialelor evocate; trusă cu instrumentar chirurgical;animal(pisică sau şobolan).

1.Compararea reproducerii răspunsurilor primare şi secundare funcţie de frecvenţa excitantului.

Tehnica:instalarea aparatelor, pregătirea animalului şi înregistrarea, se fac ca în lucrarea 42. După ce localizăm focarul activităţii maxime pentru răspunsuri primare, cauzate de stimulări izolate ale n. sciatic, se aranjează stimulatorul pe regim de impulsuri automate şi mărind treptat frecvenţa de excitare, observăm pe ecranul osciloografului modificările, ce apar în răspunsurile primare şi secundare.Se vor compara cu înregistrările de pe Fig.67,I.

2.Cercetarea pragului de evocare a reacţiilor primare şi secundare.

Aplicînd pe n. sciatic impulsuri izolate, de mărime crescîndă (ca amplitudine, dar constante ca timp), urmărim apariţia şi caracterul ambelor tipuri de reacţii.Se vor compara cu înregistrările de pe Fig.67 II.

Intrebări de control: Ce puteţi spune, pe baza rezultatelor proprii, referitor la stabilitatea fazelor pozitive şi negative a răspunsurilor primare? Comparînd răspunsurile primare şi cele secundare, ce puteţi spune cu privire la proprietăţile căilor aferente?

44.POTENTIALELE EVOCATE CEREBELOASE.

Cercetările efectuate pe cerebel au arătat că într-un fel sau altul, el intervine în toate reacţiile posibile ale organismului. Manifestă o influenţă asupra actelor motorii şi stării funcţionale a aparatului locomotor; influenţează activitatea organelor interne, exercită o influenţă reglatoare asupra sistemului nervos vegetativ, sistemelor conducătoare aferente, etc.

Metodele electrofiziologice au adus date noi cu privire la funcţia cerebelului.Astfel, înregistrîndu-se potenţialele evocate, s-a demonstrat că ele pot apare în scoarţa cerebeloasă ca răspuns la excitarea oricărui sistem senzorial.In felul acesta s-a stabilit că sistemele aferente îşi au o reprezentare în anumite zone cerebeloase.Comparativ cu zonele corespunzătoare corticale, la nivelul cerebelului ele nu sînt atît de strict delimitate, între ele existînd şi suprapuneri destul de mari.

Echipament necesar: instalaţia pentru înregistrarea potenţia-

lelor evocate;truaă de instrumente chirurgicale;pisică.

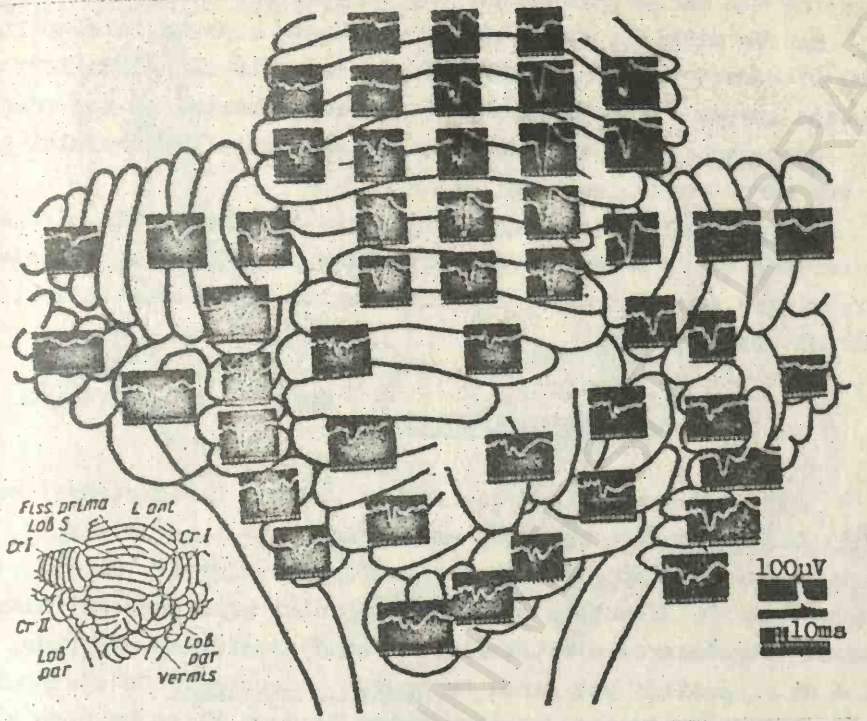


Fig.68. Răspîndirea potenţialelor evocate pe suprafaţa scoarţei cerebeloase, ce apar ca răspuns la excitarea n.pelvic.

Tehnica:animalul narcotizat în prealabil, se fixează cu capul într-un suport.Se secţionează tegumentul de la protuberanţa occipitală pînă în zona gîtului.Cu o răzuşă desprindem muşchii de pe craniu şi eliberăm toată regiunea occipitală pînă la nivelul primelor vertebre cervicale.Trebuie să fim atenţi de a nu leza venele şi arterele de pe ambele părţi din zona respectivă.Cu ajutorul unui trepan înlăturăm oasele din zona craniului respectivă şi, pătrunzînd în orificiul creiat cu o sondă canelată, desprindem duramater.Înlăturarea oaselor cutiei craniene trebuie făcută cu multă atenţie, deoarece, de multe ori, ele se sudează de duramater încît înlăturarea lor cauzează traumatizarea venelor paraterminale.Creieraşul suportă greu hemoragia şi ca urmare activitatea lui poate fi mult diminuată.

Procedăm în continuare ca la înregistrarea oricărui potenţial evocat(vz. lucrarea 42).Se excită n. sciatic şi prin deplasarea electrodului de derivare unipolar pe suprafaţa scoarţei cerebeloa-

să, observăm caracterul potenţialelor care apar.

Se vor stabili: a)-zonele de derivare a potenţialelor(Fig. 68); b)-caracterul răspunsurilor; c)-pragurile răspunsurilor; d)-relaţia lor cu excitări repetate(frecvenţa maximă de reproducere).

Recomandări: se va desena schema suprafeţei cerebelului şi se vor marca zonele cele mai active.

Intrebări:se vor compara caracteristicile potenţialelor evocate cerebrale şi cerebeloase.Amplitudinea potenţialelor evocate cerebeloase este mai mare, în cazul excitării n. sciatic ipsilateral sau contralateral?

45.TEHNICA STEREOTAXICA.

Dacă amplasarea electrozilor, în vederea înregistrării activităţii bioelectrice a scoarţei cerebrale, este relativ simplă, datorită dispunerii superficiale a suprafeţei explorate, care poate fi expusă vederii directe a experimentatorului prin procedee simple, atunci introducerea electrozilor în zone encefalice profunde, necesită un dispozitiv sub formă de aparat stereotaxic.Cu ajutorul acestui aparat, introdus pentru prima dată de către Horsley şi Clark, se poate introduce electrodul,canula, bisturiul, sau oricare alt instrument, în anumite structuri nervoase, fără controlul vizual direct.Localizarea structurilor nervoase subcorticale, se determină după un sistem de coordonate dreptunghiulare, folosind anumite repere externe de pe craniu, sau alte puncte de referinţă. Pentru fiecare specie de animal, la care se foloseşte metoda stereotaxică, există atlase stereotaxice ale creierului, în care sînt indicate pentru fiecare nucleu encefalic 3 valori ale coordonatelor.

Există o multitudine de aparate stereotaxice de diferite construcţii, destinate diferitelor animale.Aparatele stereotaxice obişnuite constau din 2 părţi principale (Fig.69): dispozitiv de fixare a capului într-o poziţie determinată şi un dispozitiv ce permite deplasarea portelectrodului pe o distanţă măsurată în sistemul dreptunghiular sau polar de coordonate.

Prima parte constă, deobicei, din 2 bare, ce se introduc în canalul auditiv extern şi un suport pentru maxilarul superior.Tot acest dispozitiv determină suprafaţa bazală de referinţă(planul de fixare a capului), care trebuie să rămînă constantă la toţi indi-

vizii operaţi şi să coincidă cu suprafaţa bazală, folosită la întocmirea atlasului stereotaxic.

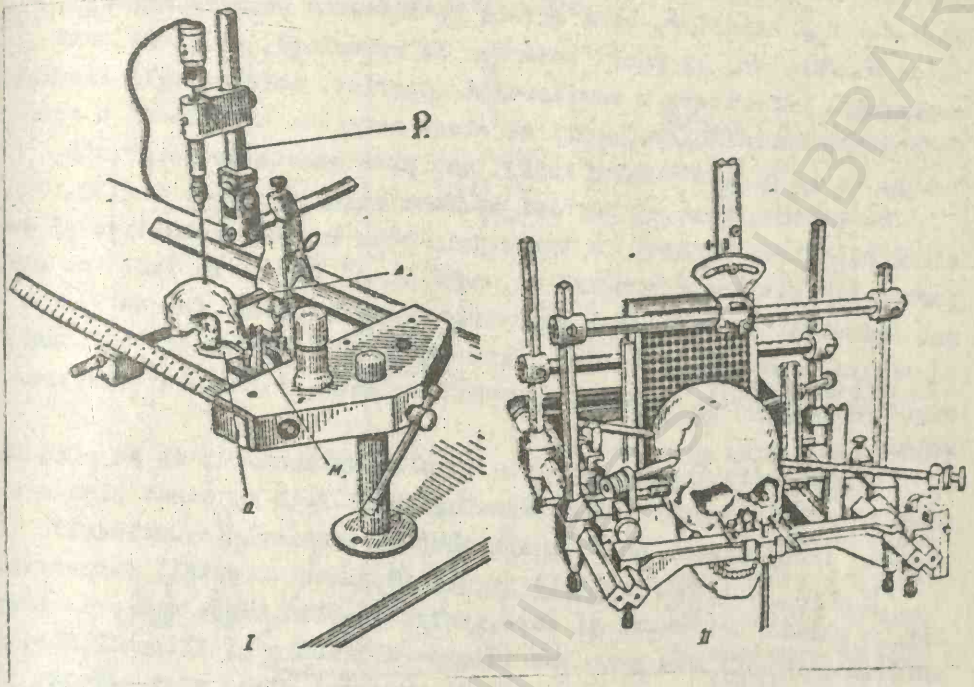


Fig.69. Tehnica stereotaxică.I-aparat stereotaxic pentru animale.A-bare de urechi;O-fixatirul orbitei;M-suportul maxilarului;P-portelectrodul.II-dispozitiv stereotaxic pentru intervenţii neurochirurgicale pe creierul de om.

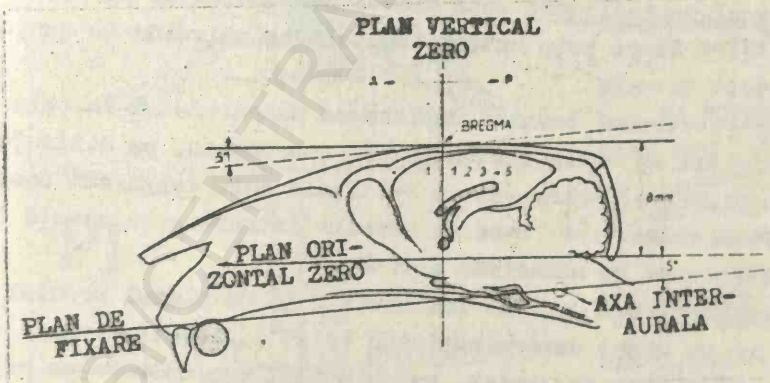


Fig.70. Secţiune sagitală prin craniul şi creierul de şobolan indicînd modul de fixare a capului în aparatul stereotaxic şi suprafeţele de referinţă(După Szentágothai şi col.1968)

Suprafaţa bazală se alege în aşa fel, încît să fie aproximativ

paralelă cu baza craniului.Ea trece prin axa interaurală şi punctul de referinţă anterior, care diferă la diferite animale.La majoritatea animalelor, ca punct anterior de referinţă, se alege zona suprafeţei inferioare a maxilarului superior, care se află imediat în spatele incisivilor.Uneori se alege marginea inferioară a orbitelor, ca la picisă(Jasper 1952), sau alte puncte de referinţă.

La şobolan fixarea capului se face obişnuit ca în Fig.70, adică planul de fixare, ce trece prin cele 2 canale auditive şi suportul incisivilor, formează un unghi de 5° (nasul în jos), cu planul orizontal de deplasare a portelectrodului.Acest fel de fixare a capului prezintă avantajul, deoarece bregma devine cel mai înalt punct craniometric, ceea ce uşurează orientarea vîrfului electrodului.

Planul orizontal zero, este un plan orizontal , ce se află la 8 mm adîncime faţă de bregma(Szentagothai).Faţă de acest plan orizontal, încep măsurătorile creierului pe verticală(vz.atlasul).

Planul vertical(frontal) zero,este planul frontal, perpendicular pe planul orizontal şi care,pentru şobolan,trece ori prin bregma(Szentagothai) sau prin axa interaurală(König şi Klippel).Secţiunile de creier, care se fac anterior acestui plan, sînt marcate pe atlas cu A iar cele făcute posterior-cu P urmate de cîte o cifră care indică distanţa faţă de planul verical zero.

Planul sagital zero este planul perpendicular pe linia orizontală şi care trece prin sutura sagitală,ce coincide cu şanţul interemisferic.

Portelectrodul permite deplasarea electrodului în cele 3 planuri paralele cu axele siatemului de coordonate, pe distanţe măsurate cu precizie.Deplasarea pe verticală este asigurată uneori cu şuruburi micrometrice, ceea ce permite introducerea exactă a microelectrodului la adîncimea dorită.

Portelectrozii pot fi înclinaţi faţă de planul frontal sau sagital, cu un unghi determinat(pînă la 45°).Aceasta permite explorarea acelor zone de creier, ce nu pot fi abordate de pe suprafaţa dorsală a craniului.

Pentru folosirea metodei stereotaxice, au fost întocmite atlase stereotaxice pentru diferite specii de animale.Atlasele stereotaxice sînt fotografii ale secţiunilor creierului, efectuate la diferite distanţe(0,2-1 mm, sau alte mărimi) faţă de planul frontal zero.Toate secţiunile se fac paralel cu acest plan de refe-

rinţă.Distanţa secţiunii fotografiate, faţă de planul frontal zero, se indică în colţul fotografiei.Un exemplu de atlas,pentru hipotalamusul de şobolan, este indicat în Fig.71.

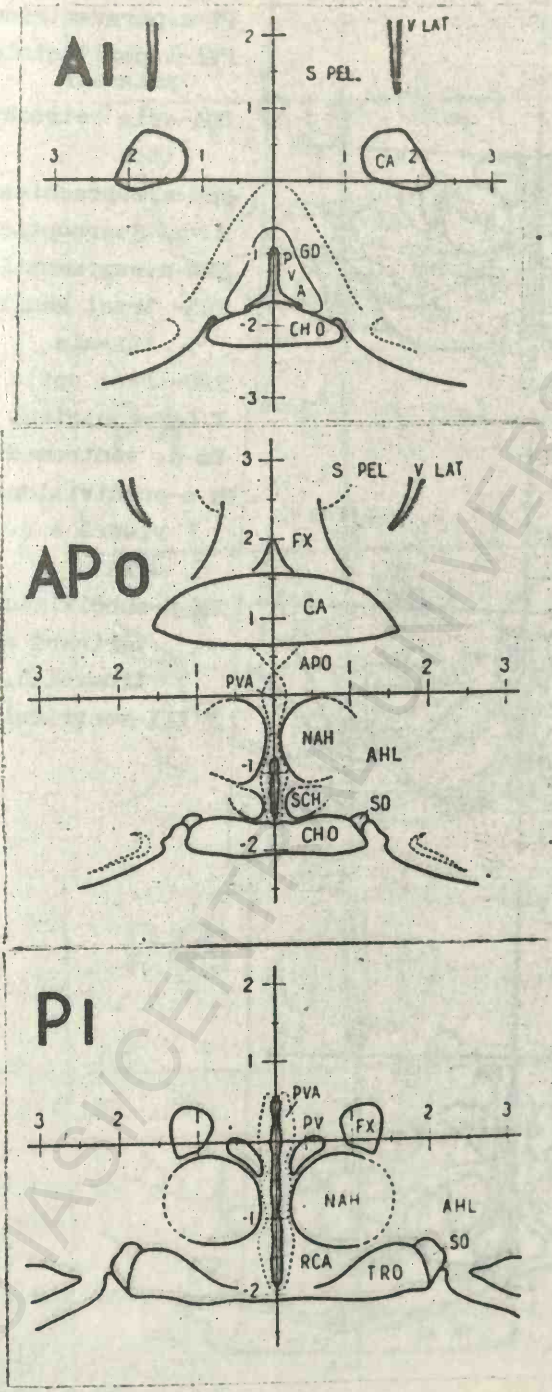


Fig.71.Atlas stereotaxic de şobolan,indicînd subdiviziunile nucleare de bază a hipotalamusului (După Szentagothai şi col.1968).

Prescurtările de bază folosite:

AHL-aria hipotalamică laterală.

AHP-aria hipotalamică posterioară.

APO-aria preoptică

ARC-nucleul arcuat

CA-comisura anterioară.

CHO-chiasma optică

DM-n.dorsomedian

FX-fornix

LAHY-lobul anterior al hipofizei.

MFB-fasciculul median prozencefalic

ML-n.mamilar lateral

MM l-subdiviziunea laterală a n. median mamilar.

MM m-subdiviziunea mediană a n.median mamilar.

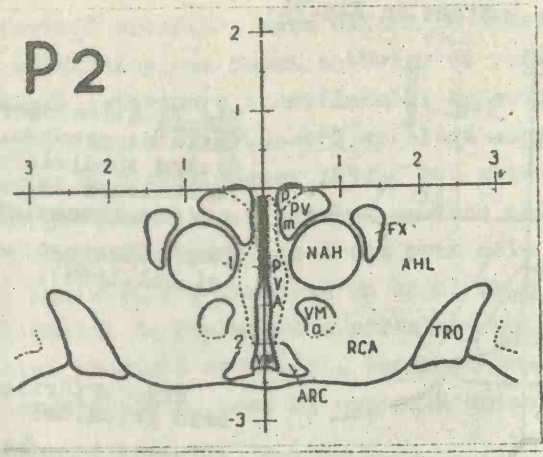
NAH-n.anterior hipotalamic

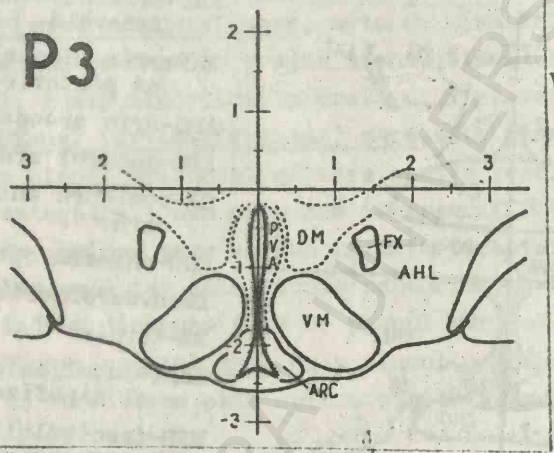
P INF-process infundibular

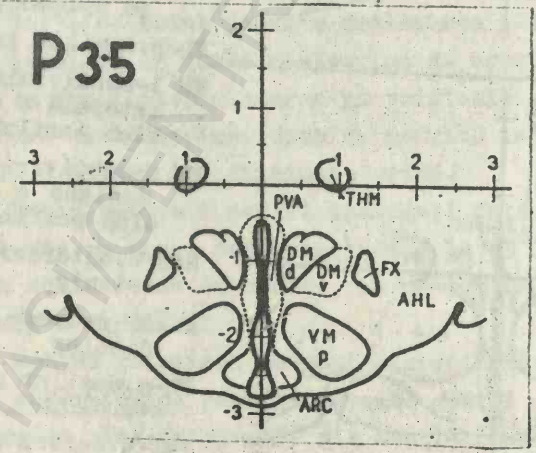
PL-n.mamilar prelateral

PMD-n.dorsal premamilar

BCU IASI CENTRUL UNIVERSITARY

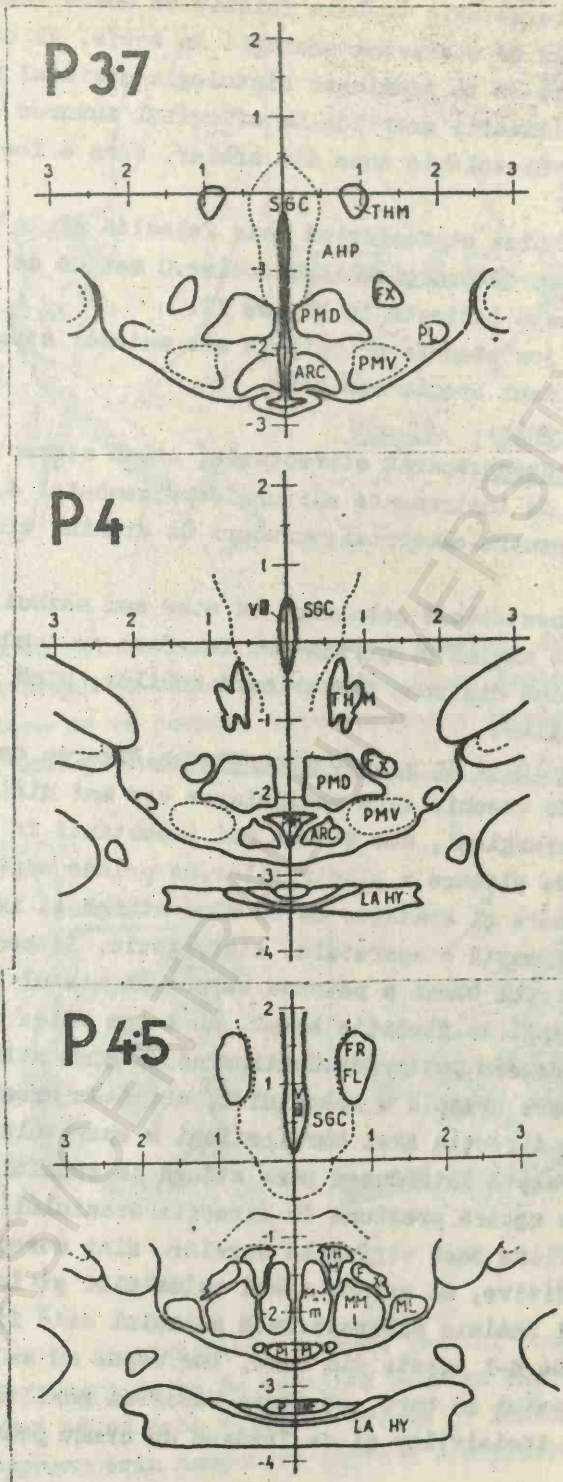






PMV-n.premamilar ventral
PV-n.paraventricular
PVA-n.periventricular anterior
RCA-aria retrochiasmatică
SCH-n.suprachiasmatic
SO-n. supraoptic
SUM-n.supramamilar
THM- tract mamilotalamic
TRO-tract optic
V LAT-ventricul lateral
Vm-n. ventromedian
VM a-subdiviziunea anterioară a n.ventromedian
VM p-subdiviziunea posterioară a n. ventromedian.
V III-ventriculul III

BCU IAȘI-CENTRA UNIVERSITARĂ



BOUWSTEEN UNIVERSITY LIBRARY

Orice atlas stereotaxic trebuie folosit cu unele rezerve.Se recomandă ca înainte de a efectua operaţii în serie, să se opereze un animal, după care să se examineze histologic creierul animalului, în vederea eliminării erorilor.La sfîrşitul tuturor experienţelor, se verifică histologic zona din creier, care a fost explorată.

In prezent tehnica stereotaxică este folosită şi în clinică, în intervenţiile neurochirurgicale pe creier.O metodă de fixare a craniului de om, este indicată în Fig.69 II.

Descriem mai jos etapele principale ale metodei stereotaxice, folosite în experiment cronic sau acut.

Experiment cronic.

Echipament necesar:aparat stereotaxic; atlas stereotaxic pentru şobolan;trusă de instrumente chirurgicale;nembutal 4,5%; alcool iodat;soclu pentru electrozi;şuruburi de craniu; ciment dentar aţă chirurgicală.

Tehnica:se anesteziază şobolanul cu eter sau nembutal(4,5mg/kg.g.c. i.p.).Cu o maşină electrică sau foarfece se tunde capul animalului, începînd din zona posterioară ochilor, pînă în zona posterioară urechilor.

Fixarea animalului în aparat stereotaxic.Fixarea capului animalului în bare de urechi, este manipularea cea mai dificilă din tot procedeul chirurgical, dar şi cea mai importantă în determinarea exactităţii de plasare a electrozilor.Se prinde capul animalului, cu degetul mare şi arătător de la mîna stîngă şi introducem bara din partea dreaptă a aparatului stereotaxic, în canalul auditiv drept.Dacă vîrful barei a pătruns corect în meatul auditiv, atunci apăsînd capul în direcţia barei, nu-l vom putea deplasa în sus, jos, anterior sau posterior.Continuînd cu mîna stîngă să presăm capul spre bara dreaptă a aparatului, orientăm urechea stîngă a animalului, în direcţia axei barei stîngi a aparatului stereotaxic.Cu mîna dreaptă introducem bara stîngă în canalul auditiv stîng,aplicînd o uşoară presiune în direcţia craniului(Fig.71,2).

Ca să verificăm dacă vîrfurile barelor sînt corect plasate în meaturile auditive, se prinde nasul animalului şi încercăm să-l mişcăm înapoi şi înainte puternic.Dacă animalul este fixat corect, este imposibil de a-l scoate din bare, iar capul nu se deplasează. După fixarea capului în bare, se aduce suportul maxilarului imediat în spatele incisivilor şi se fixează cu clema pentru nas.

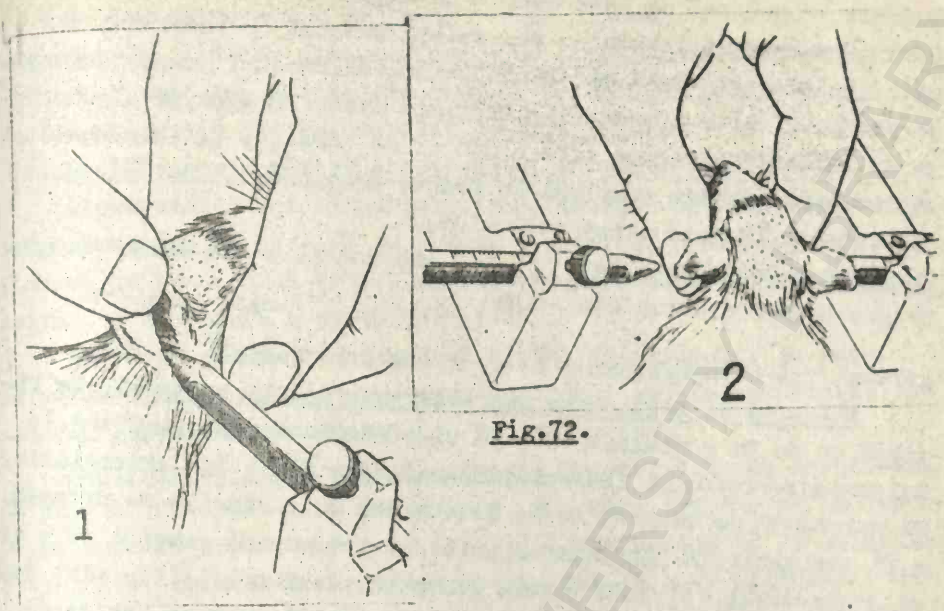


Fig.72.

Ungem cu alcool iodat tegumentul capului, după care-l secţionăm cu bisturiul pe o distanţă de 2-2,5 cm, începînd din spatele ochilor, ceea ce va permite exteriorizarea ambelor puncte craniometrice-bregma şi lambda(Fig.73,1)

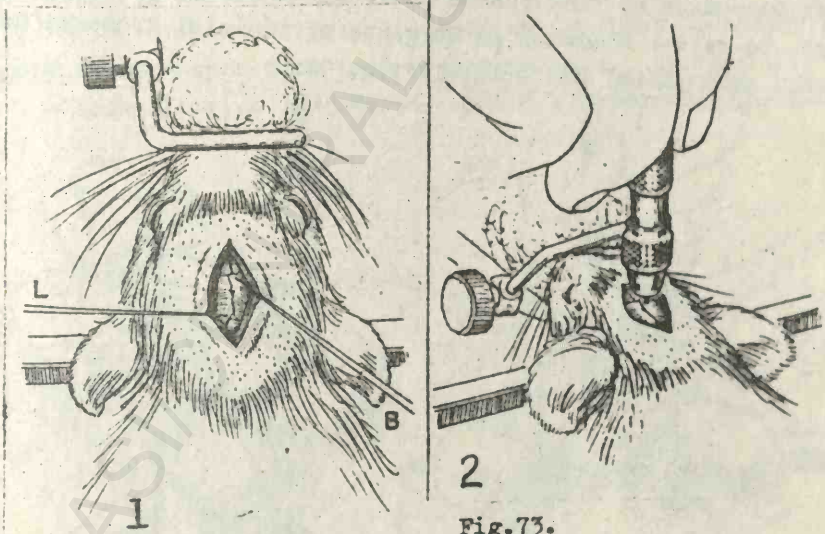


Fig.73.

După secţiunea tegumentului, se rade ţesutul conjunctiv al periostului, care aderă de os.Se continuă raderea osului pînă cînd osul rămîne curat şi ne apar vizibile bregma şi lambda.Eventualele hemoragii se opresc prin tamponare cu vată sterilă.Punctul bregma(B)

reprezintă punctul de intersecţie la mijloc a oaselor frontale şi parietale.Punctul lambda(L) reprezintă punctul de intersecţie a suturii interparietale cu sutura lambdoidă.Punctul bregma serveşte ca punct de reper stereotaxic.Distanţa dintre bregma şi lambda poate fi folosită pentru a afla factorul de corecţie al coordonatelor stereotaxice pentru şobolani cu creier considerabil mai mic decît cel folosit la întocmirea atlasului:

$$\frac{\text{Bregma-Lambda(şobolan dat)}}{\text{Bregma-Lambda(şobolan din atlas)}} \times \text{coordonatele din atlas} = \text{coordonate corectate.}$$

Atlasul lui Szentagothai a fost efectuat pe masculi de 200g.

Marcarea şi trepanarea punctelor coordonate pe craniu.Se fixează un ac în portelectrod , pe care-l deplasăm în coordonatele anteroposterioare şi laterale, determinate din atlas stereotaxic. Se marchează pe craniu, cu un creion sau ac, locurile ce urmează a fi trepanate.In punctele marcate, se trepanează craniul cu o freză dentară(Fig.73,2).Ca regulă generală, dacă orificiile sînt destinate pentru implantări de electrozi cronici, ele se fac mici; dacă pe timpul experienţei, trebuie să deplasăm electrodul, funcţie de controlul fiziologic al poziţiei electrodului, atunci ele se fac mai mari.Trepanarea craniului se face pînă la nivel de duramater.Duramater se secţionează cu vîrful unui ac hipodermic de seringă, pe care-l deplasăm pe marginea orificiului trepanat(nu prin apăsare pe mijlocul orificiului)(Fig. 74,1)

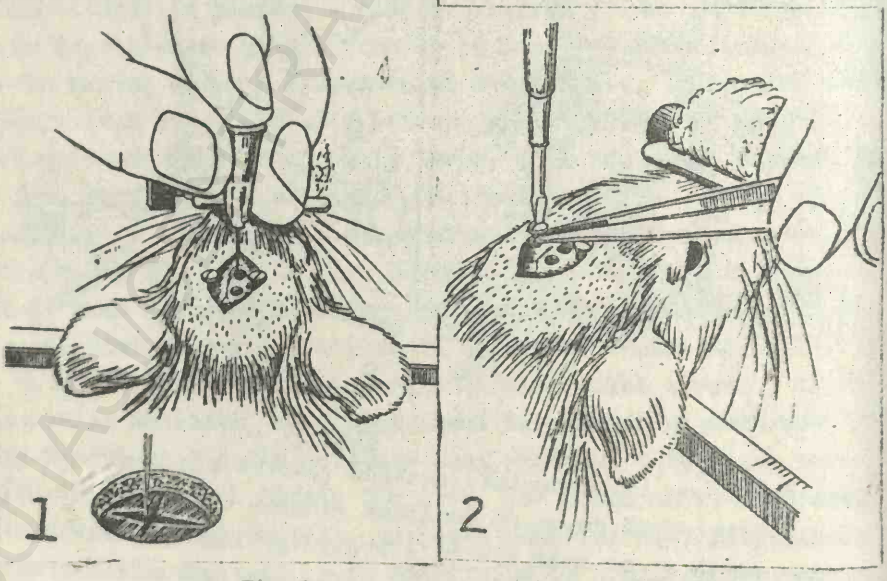


Fig.74.

Se fac cel puţin 2 orificii pentru şuruburi de craniu, care vor ajuta la fixarea electrozilor şi a soclului de electrozi,cu ajutorul cimentului dentar, de craniul animalului.Aceste 2 orificii se fac pe craniu cît mai lateral posibil(Fig.74,2).

Verificarea poziţiei electrodului în portelectrod.

Electrodul fixat în portelectrod, trebuie să fie orientat pe toată lungimea sa paralel cu planul frontal şi planul sagital.Verificarea se face cu un echer, aşezat în unghi drept pe planul orizontal de deplasare a portelectrodului.

In etapa următoare se aplică vîrful electrodului în punctul de referinţă(bregma) şi se notează coordonatele de referinţă, în vederea calculării coordonatelor de implantare.

Implantarea electrozilor cronici. Se sterilizează electrodul în alcool 70%.Inainte de implantare, alcoolul trebuie să se evapore.Se coboară electrodul prin orificiul trepanat,pînă la adîncimea creierului, calculată din atlas stereotaxic(Fig.75,1).Numărul maxim de electrozi, ce se poate implanta într-un creier de gobolan, este 4; un număr mai mare de electrozi produce traume ale creierului.

Inainte de aplicarea cimentului dentar, se aplică în jurul electrodului o bucată de gel, pentru a evita pătrunderea cimentului pe creier.Se utilizează fosfat ciment sau acrilat.Amestecul se prepară extemporaneu.După întărirea cimentului, aplicat numai în jurul electrozilor,se racordează capătul electrozilor la soclu(Fig. 75,2)

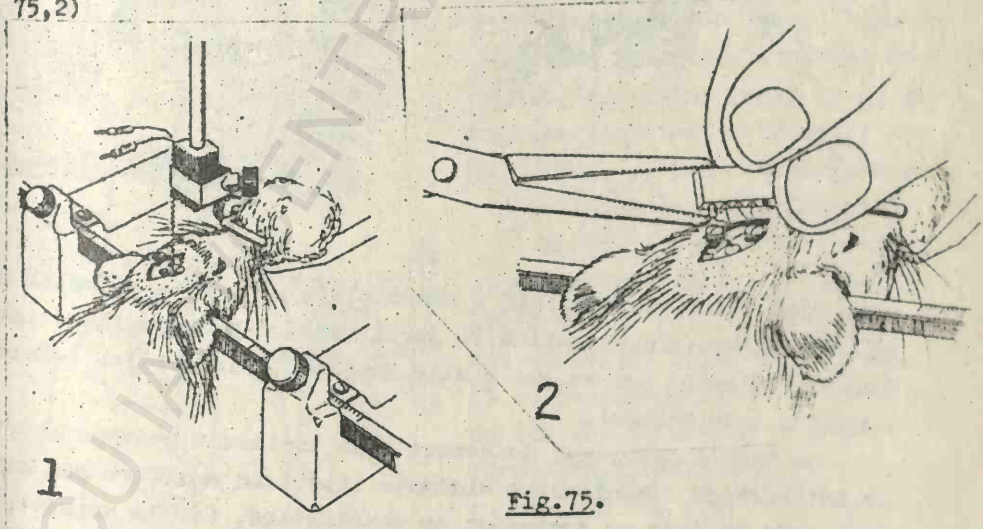


Fig.75.

BCU IMF CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Se cimentează soclu de craniu.Pentru aceasta se pune suficientă pastă de ciment pe craniu,în care se introduce soclu(Fig.76,1,2). Trebuie să avem grijă ca să nu se atingă capetele dezizolate ale sîrmei.După ce cimentul capătă o consistenţă plastică, se aplică tegumentul peste ciment, după care se presează cu degete pentru a se mula complet peste ciment(Fig.76,3,4).Dacă cimentul prezintă colţuri rugoase, ele trebuiesc tăiate pentru a nu irita ţesutul.

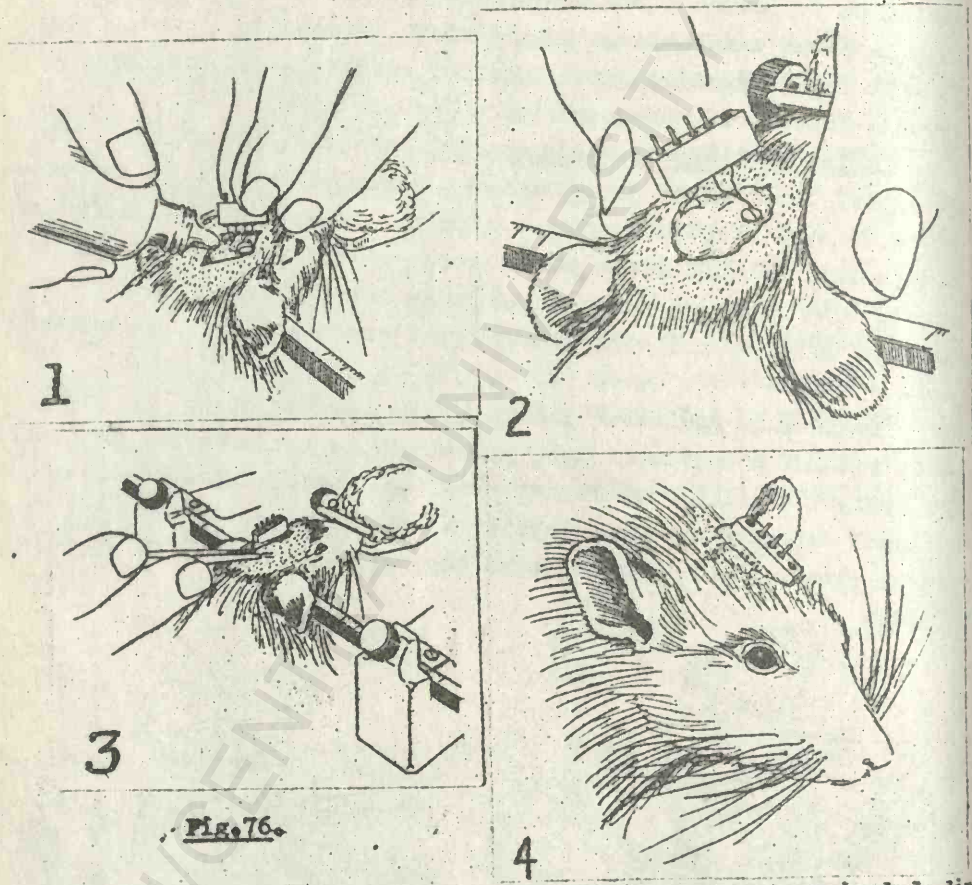


Fig.76.

După întărirea completă a cimentului, se scoate animalul din aparat stereotaxic.Se aplică în jurul rănii o pudră antiseptică (ex.sulfatiazol) sau un antibiotic.După 4-7 zile are loc refacerea completă a animalului.

De regulă şobolanul nu necesită un tratament postoperator cu antibiotice administrate sistemic (i.v.).La mamifere mai superioare este necesar un tratament cu antibiotice, iar la primate, intervenţia chirurgicală trebuie făcută în condiţii sterile.

In experiment acut. După ce s-a trepanat craniul, se introduce electrodul în zona dorită, se efectuează intervenţia necesară (excitarea, coagularea, implantarea substanţei, etc) după care se scoate electrodul din cap, se presară pe marginea rănii un antibiotic şi se coase tegumentul din zona capului.

Examinarea histologică a creierului.

A. Perfuzia cardiacă. Pentru a se putea executa secţiuni fine ale creierului, este necesară o prealabilă fixare şi întărire a lui. Creierul animalelor mici, cum este şobolanul, poate fi fixat în cîteva zile, ţinîndu-l cîteva zile în formaldehidă 4%. Prin folosirea acestui procedeu are loc ratatinarea (strîngerea) creierului pînă la 30% şi o modificare a formei lui. Pentru a evita aceste inconveniente, se preferă perfuzia creierului cu formaldehidă 40%. Avantajele metodei de perfuzie, sînt multiple: 1)-fixare mult mai rapidă (creierul poate fi secţionat imediat după perfuzie); 2)-distorsiuni şi ratatinări minime ale ţesutului (numai 6% prin folosirea formaldehidei) 3)-o bună fixare şi localizare a traseului electrodului (pe secţiuni poate fi observată forma exactă a electrodului).

La animale mai mari, cum este pisica, fixatorul poate fi administrat prin canularea carotidei. La şobolan se preferă perfuzia cardiacă. Se anesteziază şobolanul cu nembutal, se descoperă inima; se prinde vîrful ventriculului cu o pensă şi se face o incizie mare în ventriculul drept, pentru a permite scurgerea sîngelui venos. Se injectează rapid 10-20 ml soluţie fiziologică în ventriculul stîng, pentru a spăla creierul şi inima de sînge. (Fig.77).

Fig.77.

Se introduce un ac de seringă în capătul de jos a ventriculului stîng (atenţie să nu se spargă septul interventricular) şi se injectează 40-50 ml formaldehidă 40%. In momentul în care formaldehida ajunge în creier, se observă cum şobolanul îşi mişcă mandibula.

B.Tehnica colorării.

Uneori este dificil de a localiza zona din creier, în care a pătruns vîrful electrodului.În acest scop se foloseşte reacţia de colorare a ionilor de Fe, despringi de pe electrodul confecţionat din oţel inoxidabil, cu ferocianură de K, care cu Fe dă o culoare albastră.Se procedează astfel:se fixează creierul,prin perfuzie cardiacă,cu formaldehidă saturată cu ferocianură de potasiu. După terminarea perfuziei creierului şi oprirea circulaţiei, se trece un curent anodic prin electrodul de oţel implantat în creier (catodul se fixează pe o parte a corpului animalului).Se trece un curent slab(5-10 milicoulombi).In urma trecerii curentului anodic, ionii de Fe de pe electrod, se desprind şi trec în ţesutul din jurul electrodului dezizolat.In secţiunile histologice, zona respectivă ne apare colorată în albastru.

C.Tehnica histologică-fotografică.

Această tehnică este recomandată pentru verificarea histologică rapidă a zonei în care a pătruns electrodul, sau a mărimii zonei lezate sau extirpate.Metoda fotografică a lui Guzman-Flores şi col.(1958) foloseşte secţiunile (50-100 μ), efectuate pe un microtom cu congelare, în aceeaşi manieră în care se foloseşte filmul negativ în vederea efectuării fotografiilor pozitive.Se va folosi o hîrtie fotografică cu contrast puternic. Secţiunile efectuate la microtom, se aplică pe o lamă de microscop, avînd grijă să fie bine întinse şi umede cu apă şi se pun la aparatul de mărit foto(Fig.78).Pe fotografiile obţinute se pot vedea în detaliu fibrele mielinizate, fără evidenţierea grupelor nucleare separate.Pentru observarea grupelor nucleare, se recomandă colorarea secţiunilor cu tionină sau cresil violet.Pentru diferite tehnici de colorare, se vor consulta lucrări de histolog

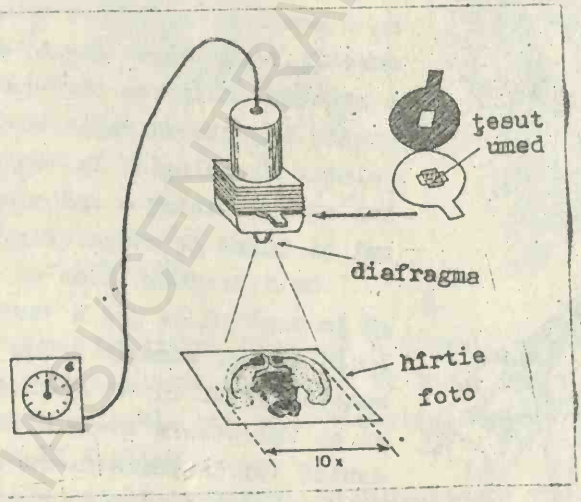


Fig.78.

Intrebări de control. Care este principiul tehnicii stereotaxice? Care sînt părţile de bază ale aparatului stereotaxic? Cum se folosesc atlasele stereotaxice?

46. ROLUL HIPOTALAMUSULUI IN TERMOREGLARE EVIDENTIAT PRIN LEZIUNI ELECTROLITICE.

La nivelul hipotalamusului au fost localizate 2 regiuni principale, care integrează şi coordonează mecanismele biofizice şi biochimice cu rol în termoreglare:centrul termogenetic şi centrul antitermic(termolitic).

Centrul termogenetic este localizat în hipotalamusul posterior. Excitarea acestei zone, măreşte producerea de căldură, iar lezarea întinsă a ei este urmată de hipotermie, uneori de 28°C, animalul comportîndu-se ca un poikilotherm.Intrarea în activitate a acestui centru se face pe cale reflexă, informaţiile fiind transmise de către termoreceptorii din piele şi mucoase.Centrul termogenetic nu este excitat direct de către temperatura sîngelui ce-l irigă. Hipotalamusul posterior intervine în adaptarea organismului la frig printr-o cale efectoare triplă:simpatoadrenergică(vasoconstricţie, piloerecţie,intensificarea metabolismului), prin adenohipofiză(secreţia de ACTH şi TSH) şi somatică(frisonul termic).

Centrul termolitic este localizat în hipotalamusul anterior şi în aria preoptică mediană.Incălzirea acestei zone cu ajutorul unei termode, declanşează toate reacţiile caracteristice expunerii la căldură:vasodilataţie cutanată, secreţie sudorală, polipnee, inhibarea frisonului termic, scăderea temperaturii rectale.Distrugerea bilaterală a centrului termolitic este urmată de creşterea temperaturii corpului şi uneori moarte prin hipertermie.

Acest centru poate fi excitat pe cale reflexă, prin aferenţele de la receptorii termici cutanaţi pentru cald şi direct pe calea temperaturii sîngelui, în această zonă fiind localizaţi termodetectorii.Reacţiile efectoare se declanşează prin intermediul centrului termogenetic, care este inhibat în cazul creşterii temperaturii corpului sau stimulat în urma răcirii ariei preoptice mediane.De asemenea, pe cale eferentă simpatică colinergică, a cărei origine este în hipotalamusul anterior, se declanşează secreţia sudorală şi vasodilataţia cutanată secundară prin mecanism bradikininic.

Principiu:cunoscînd temperatura rectală bazală a şobolanului, se înregistrează variaţiile termice la şobolan la diferite intervale după lezarea ariei hipotalamice anterioare, sau după lezarea hipotalamusului posterior.

Echipament necesar: aparat stereotaxic;biocoagulator;electrod de coagulare;termometru rectal; trusă chirurgicală; eter;şobolan.

Tehnica:se determină temperatura rectală a şobolanului înainte de operaţie.Se anesteziază cu eter, după care se aplică etapele metodei stereotaxice, descrise în lucrarea 45, pînă la exteriorizarea suturilor de pe craniu.Se pot folosi electrozi din NiCr, oţel inoxidabil sau platină cu Ø de 0,2-0,3 mm,izolaţi cu warnish cu excepţia vîrfului, care rămîne dezizolat pe o distanţă de 0,1-0,2 mm.

La şobolan mascul de 200 g, se vor utiliza următoarele coordonate pentru zona hipotalamică anterioară:P-0,5/ L-0,7/ V-8,8mm. Pentru hipotalamusul posterior: P-3,7/ L-0,6 /V-8,8 mm.Cum s-au calculat aceste coordonate? Se fac leziuni bilaterale.In acest scop după trepanarea craniului în zonele indicate după coordonatele de mai sus, se indroduce electrodul de coagulare în planul orizontal indicat(V 8,8 mm) şi se trece prin electrod un curent anodic de aproximativ 2mA/10-15 sec., catodul fiind aplicat pe altă parte a corpului(bara urechii sau laba piciorului).Mărimea leziunii electrolitice este funcţie de cantitatea de electricitate măsurată în milicoulombi(mC)(secunde x mA).După leziunea bilaterală se coase tegumentul secţionat din zona capului.

Determinările ulterioare ale temperaturii rectale se fac la intervale de 1 oră postoperator timp de 2-5 ore.

Pentru a disocia efectul cauzat de leziunea electrolitică a ţesutului, de eventualele leziuni produse de deplasarea electrodului prin creier pînă la formaţiunea dorită, se folosesc şobolani fals operaţi-animale supuse aceluiaşi procedeu operator, cu excepţia trecerii curentului prin electrod.Ei vor servi drept animale martor pentru animalele cu leziuni.

Recomandări: se va înregistra temperatura iniţială a animalului şi variaţia ei la intervale de 1 oră postoperator.Se vor formula concluzii privind rolul ariei hipotalamice anterioare şi posterioare în termoreglare.

Intrebări: care este rolul hipotalamusului în termoreglare? Prin ce mecanism intervine hipotalamusul în menţinerea homeosta-

ziei termice? Cum am putea prelungi durata vieţii şobolanului, după leziuni extinse ale ariei hipotalamice anterioare?

METODA REFLEXELOR CONDITIONATE.

Metoda reflexelor condiţionate constituie o metodă de bază pentru studiul activităţii nervoase superioare.Reflexele condiţionate pot fi elaborate pe baza oricărui reflex necondiţionat, respectîndu-se următoarele reguli de bază(după Pavlov):

1-Pentru elaborarea reflexului condiţionat (RC), este necesară asocierea în timp a 2 excitanţi:aşa numitul excitant necondiţionat(EN), care determină reflexul necondiţionat dat şi un oarecare excitant indiferent, care va deveni excitant condiţionat(EC).

2-Pentru elaborarea RC este necesar ca acţiunea EC să preceadă pe aceea a EN.

3-EC trebuie să fie fiziologic mult mai slab comparativ cu EN şi, pe cît posibil, mai indiferent, în sensul de a nu determina reacţii fiziologice importante.

4-Pentru formarea RC este necesară o stare fiziologică normală a sistemului nervos central.

5-Pe timpul formării RC, scoarţa emisferelor cerebrale trebuie să fie eliberată de alte forme de activitate.Cu alte cuvinte, în timpul elaborării RC este necesară o eliberare a animalului de acţiunea excitanţilor străini, externi sau interni.

Prin nerespectarea acestor reguli,reflexele condiţionate se elaborează cu mare greutate, iar uneori este chiar imposibil.

Pentru elaborarea RC la animale, au fost concepute diferite metode.Descriem mai jos unele din ele, folosite mai frecvent în ultima perioadă de timp.

47.REFLEXELE CONDITIONATE DE EVITARE ACTIVA LA ANIMALE MICI DE LABORATOR

In condiţionările de evitare, se prezintă animalului un EC, care este urmat de un excitant dureros (EN) atunci cînd animalul nu efectuează un răspuns arbitrar oarecare.Majoritatea condiţionărilor de evitare se efectuează pe animale mici de laborator (şobolani, şoareci,etc).Răspunsul cel mai des studiat, constă în

retragerea labei, sărirea unui obstacol, alpinism (cățărarea pe o bară), apăsarea pe pedală sau navetism.Răspunsul tip navetă este cel mai frecvent utilizat.In acest procedeu, animalul este plasat într-o cușcă cu două compartimente, separate între ele printr-un prag, o ușă pendulantă sau printr-o linie trasă pe podea.In vederea evitării șocului, animalul trebuie să învețe să răspundă acțiunii unui stimul condiționat, sărind dintr-un compartiment în altul.

In unele variante experimentale, animalul ar putea fi solicitat să se deplaseze într-o singură direcție-dintr-un compartiment colorat în alb, într-un compartiment colorat în negru.In acest tip de cutie, în care locul de șocare (alb) și de evitare(negru), este diferit colorat, învățarea este mai rapidă, comparativ cu o cutie uniform colorată.De asemenea, condiționarea este mai rapidă, cînd se folosește ca răspuns din partea animalului, săritura sau fuga, comparativ cu răspunsul prin apăsare pe pedală sau rotirea unui volan.

Rapiditatea condiționării, depinde și de analizatorul căruia se adresează excitantul condiționat: la cîine RC se elaborează cel mai rapid la excitanți sonori, urmînd în ordine descrescîndă cei optici și apoi tactili.Rapiditatea condiționării depinde și de intensitatea EC.

Procedeele de evitare, descrise mai sus, sînt exemple de evitare activă, deoarece animalul, pentru a evita acțiunea EN, trebuie să se deplaseze sau să efectueze un alt răspuns activ.

A.Elaborarea reflexului condiționat de evitare în cușca tip navetă.

Echipament necesar: cutie de condiționare;autotransformator; cronometru;șobolan.

Cutia de condiționare. Sînt cutii din material plastic sau placaj, la care peretele din față este transparent.Dimensiunile aproximative:lungimea 60 cm;lățimea 35 cm; înălțimea 30 cm(Fig.79). Podeaua este făcută din bare metalice inoxidabile, prin care se trece un curent de la un autotransformator, în vederea șocării animalului.Pe peretele cutiei se află fixată la mijloc o sonerie, becuri electrice, care vor servi ca excitanți condiționați.Capacul evită sărirea animalului din cutie.Pragul înalt de 6 cm, se așează la mijlocul cutiei.

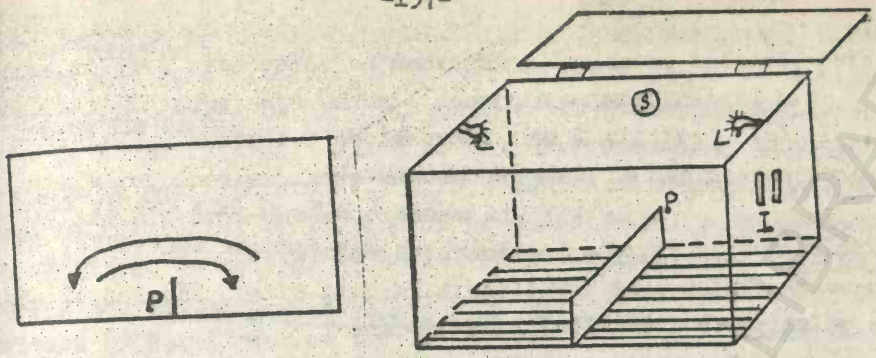


Fig.79.Cutia de condiţionare şi schematizarea răspunsului animalului.S-sonerie;L-becuri;P-prag;I-întrerupători.

Tehnica:înainte de începerea elaborării RC, se obişnuieşte şobolanul la acţiunea EC(sonerie) şi cu noua încăpere(habituarea animalului).(De ce?). Se alege o intensitate minimă a excitantului necondiţionat (curent electric), care provoacă la şobolan reacţia motorie necondiţionată de fugă dintr-un compartiment al cutiei în altul(aproximativ 30 V).

Se aplică excitantul condiţionat(soneria) timp de 5 secunde, urmat imediat de EN(curent) timp de 5 sec.,după care se lasă o pauză de 60 secunde.Se fac 10 asocieri zilnic timp de 14 zile. Pentru a evita formarea unui RC de timp, se scade pauza după asocieri la fiecare 3 zile succesive, cu 5-10 secunde.

Dacă şobolanul sare peste prag, în intervalul de 5 secunde de la prezentarea EC, se întrerupe imediat acţiunea EC, iar răspunsul se înregistrează ca răspuns condiţionat de evitare(RCE).

Se înregistrează şi latenţa RCE, adică timpul scurs din momentul aplicării EC, pînă în momentul începerii răspunsului condiţionat.

Protocolul experienţei se poate ţine după următorul model:

Numărul animalului	Lotul	Răspunsuri pozitive	Răspunsuri negative	Latenţa RCE sec.	Observaţii
1	1	⊏	⊠	3,4,2	

Rezultatul experienţei se înregistrează grafic, pe ordonată fiind trecute RCE în procente, iar pe abscisă-ziua condiţionării.

Exemplu: dacă din 10 asocieri, prezentate în modelul de sus, s-au obţinut 3 răspunsuri pozitive, avem, deci, 30% RCE în ziua respectivă.

Dacă parametrii folosiţi sînt bine aleşi şi animalele sînt

sănătoase, în a 7-8 zi de condiţionare, trebuie să obţinem cel puţin 70-80% răspunsuri pozitive.

Modul de elaborare a RC , este un model experimental pentru studiul fenomenului de învăţare la animale.

Recomandări: se va calcula media ± E.S. al RCE cît şi latenţa RCE.Pe baza rezultatelor obţinute, se vor formula concluzii.

B. Stingerea reflexului condiţionat de evitare în cuşca tip navetă.

Stingerea RC, ca urmare a instalării unei inhibiţii de stingere, apare în cazul în care EC nu mai este asociat(întărit) cu EN. Ea se caracterizează prin diminuarea treptată şi în cele din urmă dispariţia reacţiei la acţiunea EC.

Viteza de stingere a RC depinde de mai mulţi factori: particularităţile individuale ale animalului, tipul de sistem nervos, gradul de consolidare a RC; intensitatea reflexului necondiţionat, pe baza căruia a fost elaborat RC; intervalul de timp între repetările EC.Stingerea RC este mult mai rapidă la animalele, la care domină procesele inhibitorii.

Tehnica: se utilizează acelaşi procedeu ca şi la elaborarea reflexului condiţionat de evitare, cu deosebire că EC nu mai este urmat de EN.Obişnuit la acest tip de condiţionare, stingerea se urmăreşte timp de 14 zile.Din modul de evoluţie a stingerii, se pot trage concluzii cu privire la memoria de durată a animalului.

C. Elaborarea reflexului condiţionat de evitare activă în cutie labirint.

Material necesar:cutie de condiţionare, autotransformator, cronometru, gobolan.

Tehnica: Pentru a evita acţiunea EN(curent electric 30 V), gobolanul aflat în camera de plecare(CP) a cutiei labirint(Fig.80), trebuie să apese pe o pedală, care deschide o uşă de comunicare cu restul labirintului şi să fugă

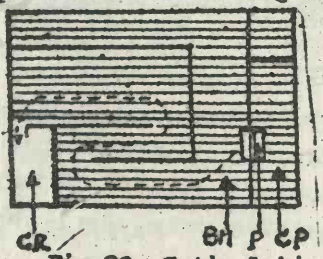


Fig.80. Cutie labirint. (explicaţia în text).

prin labirint în camera de refugiu(CR).Podeaua labirintului este formată din bare metalice, prin care se trece la nevoie curentul electric.In camera de refugiu, podeaua este din placaj.

Ca EC se foloseşte sunet de la o sonerie, care se prezintă timp de 10 sec. înainte de a aplica EN(curent alternativ aprox.30V) Dacă în intervalul de 10 sec. de la aplicarea EC, şobolanul apasă pe pedală şi se retrage în camera de refugiu, EC este imediat întrerupt, iar răspunsul se înregistrează ca răspuns condiţionat de evitare (RCE).Zilnic se fac 10 asocieri, cu o pauză dintre asocieri de 60 sec.Tinerea protocolului experienţei şi prelucrarea datelor, se fac ca în lucrarea anterioară.

Stingerea acestui tip de reflex, se face în acelaşi mod cu elaborarea, fără aplicarea EN.

Intrebări de control: Comparativ cu animalele normale, ce formă va avea curba de elaborare a reflexului condiţionat de evitare, la animale tratate cu substanţe ce facilitează învăţarea?

48. REFLEXELE CONDITIONATE DE EVITARE PASIVA.

In condiţionările de evitare pasivă, animalul trebuie să-şi inhibe (stingă) răspunsul învăţat anterior, în vederea evitării unui stimul aversiv.Ca exemplu de evitare pasivă: un animal este condiţionat, ca la prezentarea unui excitant condiţionat, să intre într-un compartiment sau să introducă capul într-o tavă, pentru a obţine recompensa(hrana).După ce animalul a învăţat acest răspuns-şi-a elaborat, deci, reflexul condiţionat respectiv- se aplică un stimul aversiv (exemplu,curent electric), ori de cîte ori, după prezentarea excitantului condiţionat, animalul pătrunde în compartiment sau introduce capul în tavă.Cu scopul de a evita şocul electric, animalul trebuie să înveţe de a se abţine să se apropie de aliment.Acest comportament de neapropiere de aliment,este un reflex condiţionat de evitare pasivă, deoarece animalul nu trebuie să efectueze o operaţie activă.

O variantă de reflex condiţionat de evitare pasivă la şobolan, constituie procedeul învăţării unice, care se bazează pe inhibarea reflexului înnăscut de evitare a luminii, printr-o prealabilă şocare electrică într-o singură şedinţă.

A.Invăţarea unică şi rata de fixare a comportamentului pasiv de evitare.

Aparatul de condiţionare constă din 2 compartimente din placaj, care comunică între ele printr-o deschidere centrală, de la podea, cu dimensiuni de 10/10 cm.Unul din compartimente (35/30/48 cm) este luminat de o lampă de 75 W, fixată pe plafonul camerei. Celălat compartiment (30/8/48 cm) este vopsit în negru, iar podeaua este formată din bare metalice, prin care se poate trece curent electric pentru şocarea şobolanului.

Tehnica: In prima zi se selecţionează şobolanii, la care reflexul înnăscut de evitare a luminii, este bine evidenţiat.In acest scop se plasează şobolanul în camera luminată şi se lasă 180 sec. Datorită motivaţiei înnăscute de evitare a luminii, şobolanii pătrund în compartimentul întunecat în intervalul a cîtorva secunde. Sobolanii, care stau mai puţin de 120 sec. în compartimentul întunecat, sînt excluşi din experiment.

In a doua zi, şobolanii sînt puşi din nou în compartimentul luminat şi după 180 sec. se închide comunicarea dintre compartimente şi se administrează în compartimentul întunecat un curent electric intermitent (aproximativ 0,5-0,8 mA) timp de 60 sec.Imediat după învăţarea unică, şobolanii se scot din cutia de condiţionare.

Fixarea evitării pasive se testează la 24, 48, 240 ore de la învăţarea unică.Pentru aceasta se pune din nou şobolanul în compartimentul luminat pentru 180 sec. şi se notează timpul petrecut în compartimentul întunecat, care serveşte ca indice de fixare a comportamentului pasiv de evitare.Cu cît timpul petrecut în compartimentul întunecat este mai mic, evitarea este mai eficace.

Recomandări: Se va nota timpul petrecut de fiecare şobolan în compartimentul întunecat şi se va face $M \pm E.S.$ pentru lotul respectiv. Se va desena cutia de condiţionare folosită.

Intrebări: Ce relaţie va exista între rata de fixare a comportamentului pasiv de evitare şi intensitatea stimulului aversiv?

4Ş.CONDITIONARI OPERANTE.

Material necesar: Cutia Skinner, şobolan flămînd.

In condiţionări operante(Skinner 1938), animalul trebuie să efectueze un răspuns înainte ca răspunsul să poată fi întărit. Condiţionările operante diferă de condiţionările de evitare sau clasice(reflexul condiţionat salivar a lui Pavlov) prin aceea că:

a)-nu există un excitant condiţionat specific, care să determine răspunsul; b)-animalul este liber să răspundă în orice moment din perioada situaţiei operante.

In „ cutia Skinner" tipică, se plasează un şobolan flămînd într-o cutie slab luminată, care prezintă o pîrghie şi o tavă în care cad alimente (Fig.81).Sobolanul explorează cutia şi ocazional apasă pedala cu piciorul.Numărul de apăsări, într-o perioadă de timp arbitrară, defineşte <u>nivelul operant precondiţional</u> de apăsare a pîrghiei de către şobolan.Se face apoi legătura între magazia de alimente şi pîrghie în aşa fel, încît la orice apăsare pe pedală, să cadă în tavă o tabletă de aliment. Sobolanul consumă tableta după care apasă din nou pîrghia.Eliberarea tabletei de aliment, întăreşte apăsarea pe pedală.

<u>Fig.81</u>. Cutia Skinner.

Numărul de apăsări pe pedală, raportat la timpul respectiv, constituie o măsură a desfăşurării condiţionării operante(sau rata de răspuns).

Rata de răspuns,în cazul folosirii răspunsului prin apăsare pe pedală, depinde de mai mulţi parametri: dimensiunea şi poziţia pîrghiei(pedalei), dimensiunea camerei de testat, efortul la răspuns cît şi numărul de tablete alimentare administrate.Deseori un şobolan neantrenat, este ajutat să efectueze apăsarea dorită, prin <u>procedeul aproximării succesive</u>. Astfel, vom administra hrană, ori de cîte ori şobolanul flămînd numai se apropie de pîrghie; după aceea- cînd se atinge de pîrghie şi în cele din urmă- numai cînd apasă pîrghia.

<u>Recomandări</u>.Se va nota rata de răspuns a şobolanului.

<u>Intrebări</u>. Prin ce diferă condiţionările operante de condiţionări clasice? Un şobolan hiperfag, va avea obligatoriu o rată de răspuns crescută, comparativ cu şobolanul normal?

50. ELABORAREA REFLEXULUI CONDITIONAT MOTOR ALIMENTAR.

In cercetările relativ recente, o largă răspîndire au căpătat metodele motorii de obţinere a alimentului. Reflexul condiţionat se elaborează pe baza reacţiei motorii de obţinere a alimentului, caracteristice animalului respectiv. Astfel, folosind cîinele ca animal de experienţă, se obişnuieşte iniţial animalul cu reacţia motorie de apăsare pe o pedală, aşezată în faţa tavei de alimente. In acest scop, ori de cîte ori animalul apasă pe pedală, se întăreşte reacţia prin administrarea hranei. După fixarea acestei reacţii, se trece pe această bază la elaborarea reflexului condiţionat. Pentru aceasta se aplică un excitant condiţionat oarecare şi în cazul cînd acţiunea lui coincide cu apăsarea pe pedală, se administrează hrana. Apăsarea pe pedală, care nu coincide cu acţiunea excitantului condiţionat, nu se întăreşte cu excitantul necondiţionat. Se consideră reflexul condiţionat elaborat, atunci cînd în urma acţiunii excitantului condiţionat, apare apăsarea pedalei cu laba. Deci, dacă în condiţionările clasice, excitantul condiţionat precede excitantul necondiţionat, în acest tip de condiţionare instrumentală, se stabileşte succesiunea: excitant condiţionat-mişcare-excitant necondiţionat. Descriem mai jos modul de elaborare al acestui tip de reflex condiţionat la iepure.

Material necesar: camera pentru elaborarea reflexelor condiţionate la animale mici; iepure; morcov.

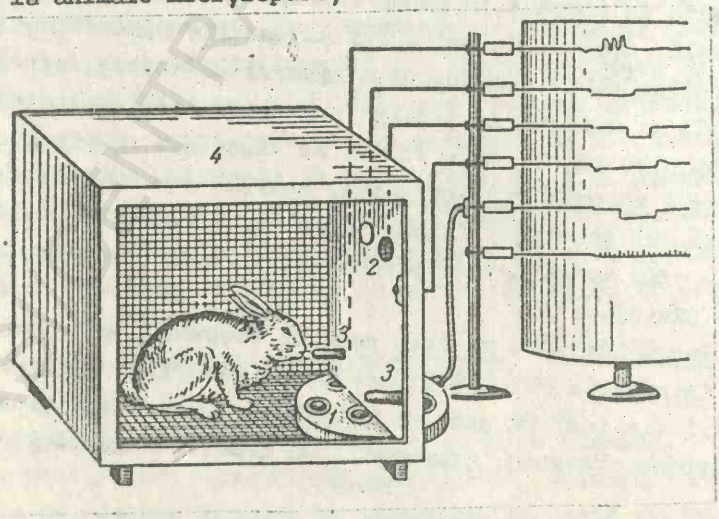


Fig.82. 1-tava de alimente; 2-excitanţi acustici şi luminoşi; 3-pîrghie cu muştiuc de cauciuc; 4-cutie de lemn.

Tehnica.Se obişnuieşte iepurele să tragă cu dinţi de pîrghie. Pentru aceasta se freacă muştiucul de cauciuc al pîrghiei cu un morcov, sau se leagă de el o bucată mică de morcov, şi după ce iepurele trage de pîrghie, întărim reacţia,administrînd morcov în tava de alimente.

Reflexul condiţionat motor elaborăm astfel:observăm comportarea animalului.Cînd iepurele se îndreaptă spre pîrghie, se aplică excitantul condiţionat(lumina).După ce iepurele trage de pîrghie cu dinţi, în tava de alimente trebuie să apară excitantul de întărire necondiţionat-morcovul.In cazul în care iepurele trage de pîrghie în lipsa excitantului luminos, nu se administrează excitantul necondiţionat alimentar.După 5-6 asocieri a luminii cu reacţia motorie, se continuă experienţa după următoarea schemă: se include excitantul luminos, care acţionează singur timp de 5 secunde(timp în care iepurele trage de pîrghie), după care se aplică excitantul necondiţionat, continuînd acţiunea luminii încă 10 sec. După elaborarea reflexului condiţionat, îl consolidăm efectuînd încă cîteva asocieri la intervale de aproximativ 3 minute.

Deoarece repetarea întăririi reflexului condiţionat, diminuează motivaţia alimentară, numărul de asocieri în decursul unei experienţei, nu trebuie să depăşească 8-10.

Recomandări: se va fixa kimograma experienţei.

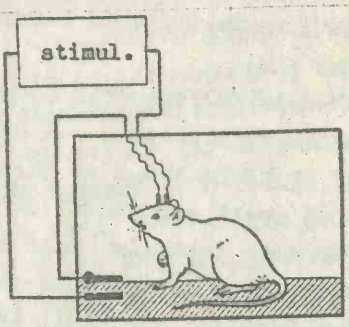
Intrebări.Cum se va modifica reflexul condiţionat motor de obţinere a alimentului, dacă în timp ce iepurele trage de pîrghie, se va auzi un zgomot puternic? Ce reflexe motorii se elaborează şi se fixează mai repede: cele de apărare sau de obţinere a hranei?

5I.TEHNICA AUTOEXCITARII ANIMALULUI.

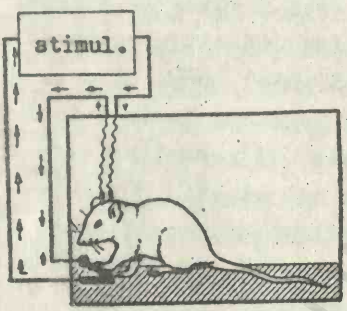
Prin această metodă, elaborată de J.Olds, animalul se poate autoexcita prin intermediul electrozilor implantaţi cronic în creierul său.Se implantează electrozi cronici în diferite zone ale creierului, iar închiderea circuitului se realizează de către animal prin apăsare pe o pedală (Fig.83).Procedeul experimental este acelaşi ca şi în alte tehnici operante, cu excepţia că în loc de a primi tablete alimentare ca întărire, animalul primeşte un şoc electric uşor în creierul său.

Circuitul electric este în aşa fel construit,încît la fiecare apăsare pe pedală, un curent electric trece prin creier un timp

fix, iar pentru o nouă excitare, este necesar ca animalul să ridice piciorul de pe pedală şi să apese din nou.Dacă electrodul a pătruns în centrii nervoşi, a căror stimulare cauzează plăcere animalului, atunci el va apăsa din nou pe pedală, uneori cu o frecvenţă de 5000 ori pe oră.



1



2

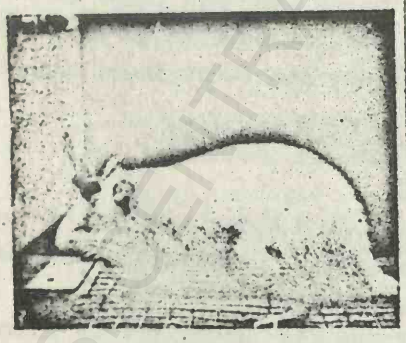


Fig.83.Experienţe cu autoexcitare.1,2,-schema simplificată a tehnicii autoexcitării; 3-şobolanul apăsînd pe pedală.

Cu ajutorul acestei tehnici, au fost delimitate zonele nervoase, legate de natura afectivă a senzaţiilor, adică dacă senzaţiile sînt plăcute sau neplăcute.Aceste calităţi afective ale senzaţiilor, sînt denumite şi cu termenii de recompensă şi respectiv pedeapsă.

Centrii majori ai plăcerii sînt localizaţi în zona hipotalamică, în primul rînd în nucleul ventromedian.Centrii secundari celor hipotalamici se găsesc în amigdală, septum, unele zone talamice şi ganglionii bazali, continuîndu-se posterior în tegmentum bazal mezencefalic.

Aceeaşi tehnică poate fi folosită şi pentru delimitarea zonelor nervoase, a căror stimulare cauzează neplăcere, durere şi un comportament de evitare.În acest caz animalul învaţă să apese pe pedală, în vederea întreruperii circuitului electric, conectat de către experimentator.Prin această tehnică s-a stabilit că centrii neplăcerii sînt localizaţi în aria periventriculară mezencefalică, extinzîndu-se anterior în zona periventriculară talamică şi hipotalamică.Nucleul perifornical hipotalamic este cel mai reactiv din toate zonele

hipotalamice.O altă arie, ce cauzează o neplăcere intensă, este localizată în substanţa cenuşie centrală mezencefalică.

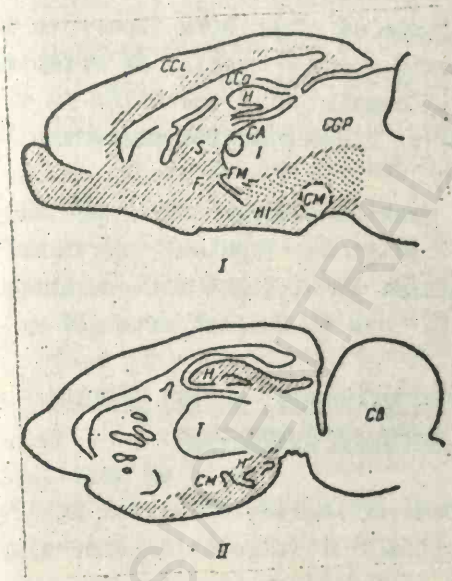
Excitarea centrilor neplăcerii, inhibă obişnuit centrii plăcerii sau a recompensei, ceea ce demonstrează că neplăcerea poate fi prioritară plăcerii sau recompensei.

Această metodă, combinată cu metoda reflexelor condiţionate, deschide noi căi pentru studiul fiziologiei sistemului nervos central, ca cele legate de formarea emoţiilor, rolul diferitelor substanţe farmacologice în reacţiile comportamentale,etc.

Echipament necesar:acelaşi ca în lucrarea 45, necesar implantării electrozilor cronici;biostimulator;cameră specială pentru autoexcitări; şobolan.

Tehnica:Implantarea electrozilor în unii centrii de pedeapsă şi recompensă, necesită un timp îndelungat şi se va efectua înainte de demonstraţie.

In fig.83(1,2) este reprezentată o schemă simplificată a metodei autoexcitării.La şobolani, cu electrozi implantaţi în creier, se elaborează actul motor de apăsare pe pedală, folosind ca excitant necondiţionat, administrarea hranei.După elaborarea acestui act motor, se conectează pedala în circuitul electric şi prin apăsarea pedalei, animalul îşi autoexcită zona respectivă de creier.Funcţie de poziţia electrozilor de excitare, o astfel de „întărire", determină o comportare diferită a animalului.



I

II

Fig.84.Secţiunea sagitală a creierului de şobolan.Zonele haşurate cauzează efect pozitiv;punctele-zone de creier prin excitarea cărora se obţin efecte de pedeapsă.CCi-cortex cinguli;CCa-corpus callosum;S-septum;H-hipocampul;CA-comisura anterioară;FM-fascicul mamilo-talamic;Ht-hipotalamus;Cb-cerebel; CM-corpii mamilari;T-talamus;F-fornix;A-amigdala;CGP- cortex gyri praepiriformis.

Ca măsură a autostimulării, constituie rata de răspuns(apăsarea pe pedală).

Implantarea electrozilor exact în zonele indicate de Olds(Fig.84) nu dă întotdeauna rezultate pozitive.După cum indică însăşi autorul, aproximativ 60% din totalul

electrozilor, sînt neutrii din punct de vedere emoţional-animalul nu se autoexcită, dar nici nu-i evită-iar aproximativ 35% se manifestă ca electrozi emoţionali pozitivi.Cînd electrodul se află în punctul activ corespunzător, se observă că animalul efectuează autoexcitarea cu multă satisfacţie.

Intrebări:Ce posibilităţi noi permite metoda autoexcitării? Ce rol au centrii pedepsei şi a recompensei în procesul de învăţare şi memorie?

52.OBSERVAREA INHIBIŢIEI EXTERNE A REFLEXELOR CONDITIONATE.

Inhibiţia externă (necondiţionată) este o inhibiţie înnăscută. Ea se manifestă prin lipsa sau întreruperea reacţiei condiţionate la excitanţi condiţionaţi, în urma acţiunii unor excitanţi noi, inopinaţi.In privinţa mecanismului de instalare, este egală cu etapa de atenţie din cadrul elaborării reflexelor condiţionate.

Material necesar: ca în lucrarea 50.

Tehnica: In timpul acţiunii excitantului condiţionat (lumina), cînd iepurele se îndreaptă sau trage de pîrghie(vz. lucrarea 50), includem un excitant sonor puternic.Apare o reacţie de orientare pronunţată, sub forma îndreptării capului şi a urechilor în direcţia sursei sonore (excitant nou) şi lipsa reacţiei elaborate la excitant condiţionat.

Intrebări de control: Dacă repetăm de cîteva ori sunetul, în momentul acţiunii excitantului condiţionat (lumina), se va mai observa inhibiţia externă a reflexului condiţionat motor alimentar? Care este mecanismul, care stă la baza inhibiţiei externe?

53.FOLOSIREA ELECTROENCEFALOGRAFIEI PENTRU STUDIUL ACTIVITATII NERVOASE SUPERIOARE.

Echipament necesar: electroencefalograf; electrozi pentru electroencefalogramă; fotofonostimulator; amestec de eter-alcool; NaCl 3%.

Tehnica: Pentru metoda electroencefalografică vz. lucrarea 41. Se aşează persoana examinată pe scaun într-o cameră ecranată.Se îndreaptă părul pe tegumentul capului în zona de aplicare a electrozilor şi se degresează tegumentul cu amestecul alcool-eter.Se umec-

tează zona poroasă a electrozilor cu NaCl 3% şi se fixează electrozii pe cap.Se aranjează electrozii simetric în zonele occipitale, temporale, parietale şi frontale.Derivăm biopotenţialele bipolar. După aplicarea electrozilor, solicităm pacientul să stea liniştit cu ochii închişi.Se inchide uşa la cameră.Cercetarea se efectuează pe întuneric.

A.Derivarea activităţii de fond a diferitelor zone ale emisferelor cerebrale.

Incepem înregistrarea cu înscrierea semnalului de calibrare, necesar pentru determinarea amplitudinii EEG.După aceasta se înregistrează activitatea emisferelor cerebrale.

B.Inregistrarea electroencefalografică a reacţiei de orientare.

Se înregistrează activitatea de fond timp de 1 minut.După aceasta includem lumina timp de 10 secunde.Se observă reacţia de desincronizare, care apare foarte evidentă îndeosebi în derivaţiile occipitale.După 2-3 minute de la întreruperea luminii, se include sunetul de 1000 Hz şi se înregistrează caracterul modificărilor electrice.

C.Inregistrarea EEG în procesul elaborării reflexului condiţionat la excitant sonor.

Este cunoscut că prin folosirea repetată, de scurtă durată, a excitanţilor luminoşi, reacţia de desincronizare a activităţii electrice de fond,se menţine, în timp ce un excitant sonor produce aceeaşi reacţie numai la primele aplicări.Din această cauză apare posibil de a folosi reacţia de desincronizare la lumină, în calitate de excitant necondiţionat specific.

După cîteva aplicări a excitantului sonor şi dispariţia completă a reacţiei de desincronizare la acest stimul, se trece la asocierea sunetului cu lumina.Pentru aceasta se aplică izolat sunetul timp de 10 sec., după care se asociază cu lumina, care va acţiona simultan încă 10 sec.După cîteva asocieri, se observă apariţia reacţiei de desincronizare la acţiunea sunetului, înainte de începutul acţiunii excitantului luminos.Apariţia desincronizării în acest caz, poate fi privită ca o reacţie reflex condiţionată.

Intrebări:Cum putem explica reacţia de desincronizare pe EEG în timpul reflexului de orientare? Cum se va modifica EEG animalului supus experienţei, dacă în prealabil îi secţionăm encefalul la nivelul tuberculilor cvadrigemeni anteriori?Care este rolul formaţiei reticulate în elaborarea reflexelor condiţionate?

CAPITOLUL IV.

FIZIOLOGIA ANALIZATORILOR.

Organismul viu poate să se adapteze la condiţiile mereu variabile ale mediului extern, numai în cazul în care între organism şi mediu, are loc un schimb continuu de informaţii.Activitatea informaţională a sistemelor biologice este aceea care determină integrarea lor în mediu.Pe de altă parte, sistemul nervos central al animalelor şi a omului, trebuie să fie continuu informat despre toate modificările, care au loc la nivelul mediului intern al organismului.Acestea sînt cîteva din motivele,pentru care fiziologii acordă o mare importanţă studiului sistemelor, a căror funcţie de bază constă în recepţionarea, transmiterea şi analiza informaţiei.

Cînd vorbim despre un analizator ca despre un sistem, ne bazăm pe studiile lui Pavlov, care a demonstrat unitatea funcţională a celor 3 segmente, ce intră în alcătuirea oricărui analizator: segmentul periferic (receptor sau traductor), de conducere şi segmentul central.Pentru realizarea unei analize juste şi complete a excitaţiilor, ce pătrund în organism, este necesară integritatea tuturor celor 3 segmente ale analizatorului.

Studiul analizatorilor se efectuează prin metode reflex condiţionate, electrofiziologice, chirurgicale, clinice, etc.

54.PRAGUL DIFERENTIAL AL SENZATIEI.

Prin prag diferenţial al senzaţiei, înţelegem valoarea minimă, cu care trebuie să modificăm forţa excitantului, pentru ca această schimbare să determine o modificare minimă, perceptibilă a senzaţiei.

Weber a arătat că valoarea cu care trebuie să modificăm intensitatea excitantului (ΔI), capabilă să inducă variaţia minimă perceptibilă a senzaţiei respective, se află într-un raport constant faţă de valoarea iniţială (I) a excitantului respectiv.Aceasta este aşa numita lege a lui Weber, exprimată matematic prin formula: $\frac{\Delta I}{I}=K$, în care I=valoarea iniţială a excitantului;ΔI=excedentul excitantului, iar K=o constantă.

Legea este valabilă numai în limita excitanţilor de intensita-

te medie şi depinde de starea funcţională a sistemului nervos cît şi de gradul de adaptare a receptorului.

Material necesar:cilindru metalic unit printr-un sistem de tuburi cu un vas gradat ;apă colorată cu albastru de metilen.

Tehnica:persoana examinată se aşează cu spatele la masa, pe care se află vasul gradat plin cu apă colorată, şi ia în mînă un cilindru metalic, în care se află 100 ml apă.Se deschide robinetul de la vasul gradat şi se scurge încet apa în cilindru metalic.Persoana examinată trebuie să indice momentul în care a simţit creşterea greutăţii.Se notează cantitatea de apă adăugată în cilindru pînă în momentul respectiv.

Se repetă de 3 ori experienţa, plecînd de fiecare dată de la o cantitate iniţială de apă din cilindrul metalic de 200, 300 şi 500 ml.

Recomandări: Se va nota rezultatul în tabelul de mai jos:

Numărul experienţei	Volumul iniţial de apă din cilindrul,ml.	ml de apă adăugată pentru sesizarea diferenţei în senzaţie.
1	100	
2	200	
3	300	
4	500	

Se va calcula K din ecuaţia Weber pentru experienţa 1,2, 3, 4.

Intrebări.Cum am putea modifica experienţa pentru demonstrarea legii lui Weber?

55.SENSIBILITATEA TACTILA.PRAGUL SPATIAL.ESTEZIOMETRIA.

Pe toată suprafaţa corpului în tegument, se află receptori tactili.La om numărul lor este de aproximativ 500.000. Răspîndirea lor nu este uniformă, motiv pentru care diferite zone ale suprafeţei tegumentare, prezintă o sensibilitate diferită.Numărul cel mai mare de receptori tactili, se află pe vîrfurile degetelor, pe palmă, vîrful limbii şi a nasului, iar cel mai redus- pe spate.

Ca o măsură a capacităţii de analiză a analizatorului tactil, serveşte pragul spaţial simultan al sensibilităţii tactile, prin care înţelegem distanţa minimă, la care trebuie să se afle 2 obiecte(vîrfurile esteziometrului), care acţionînd simultan asupra tegu-

mentului, dau naştere la 2 senzaţii(distingem 2 excitanţi tactili). Pentru ca să percepem separat, 2 puncte excitate simultan, trebuie să fie stimulaţi cel puţin 2 receptori şi 2 neuroni.Se înţelege că, suprafeţele corporale, unde numărul de receptori pe unitate de suprafaţă este mai mare, vor avea un prag spaţial mai mic.Intre mobilitatea unui segment corporal şi puterea lui de descriminare, există un paralelism.

Material necesar: esteziometru(compasul lui Weber).

Esteziometrul(Fig.85) este un aparat alcătuit dintr-o riglă metalică gradată, pe care se găsesc 2 cursori, ce pot fi deplasaţi de-a lungul riglei.Distanţa dintre cursori se citeşte pe riglă.La capetele inferioare ale cursorilor, se pot fixa 2 vîrfuri ascuţite, din os, sau două butoane metalice, după cum dorim să măsurăm sensibilitatea tactilă sau la presiune.

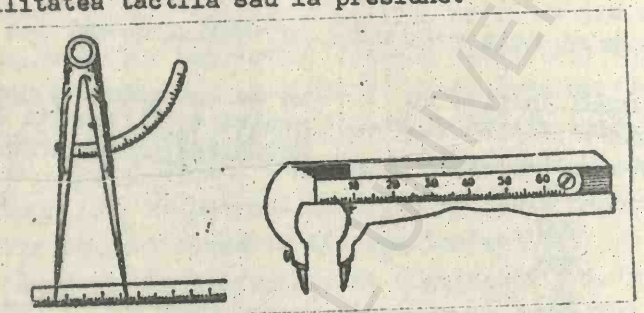


Fig.85.
Esteziometre

Tehnica:Persoana examinată stă pe scaun cu ochii închişi.Vîrfurile cursorilor de la esteziometru, care sînt apropiate la maxim, se aplică concomitent (fără apăsare) pe zona tegumentară explorată. Mărim treptat distanţa dintre cursori(adăugînd de fiecare dată cîte 1 mm) şi continuăm să atingem zona tegumentară aleasă.Se va nota distanţa minimă dintre cursori, la care examinatul sesizează prima dată 2 excitanţi tactili, aplicaţi simultan pe piele.Distanţa respectivă, reprezintă pragul spaţial simultan pentru zona tegumentară dată.

Recomandări:Se va determina pragul spaţial al sensibilităţii tactile din zona vîrfului degetelor, vîrful limbii, palma, nas, gît şi spate.

Intrebări: Ce semnificaţie fiziologică prezintă răspîndirea neuniformă a receptorilor tactili de pe diferite zone ale tegumentului la om?

56. EXPERIENTA LUI ARISTOTEL.

Material necesar: o bilă cu diametru de 0,5 cm.

Tehnica: la nivelul capătului central al analizatorului cutanat, există o somatotopie riguroasă. Posibilitatea de a localiza zona receptoare, excitată de un anume stimul, este dată de localizarea punct cu punct a suprafeţei corpului pe scoarţa emisferelor cerebrale senzoriale, cît şi de procesul de condiţionare-învăţare. Aceasta se poate demonstra prin clasica experienţă a lui Aristotel în felul următor: aşezăm bila între vîrful degetului arătător şi a degetului mijlociu (Fig.86 a). Avem senzaţia unei singure bile, deoarece zonele tegumentare excitate (regiunea internă a degetului arătător şi externă a degetului median), se proiectează la nivelul scoarţei în puncte foarte apropiate, a căror excitare simultană ne-am deprins să le considerăm ca fiind generate de 1 singur obiect. Dacă prindem bila între suprafaţa externă a degetului arătător şi suprafaţa internă a celui median (Fig.86 b), avem senzaţia de 2 bile, deoarece zonele de proiecţie corticale a celor 2 regiuni, sînt mai depărtate între ele; aceste suprafeţe ale corpului, pot fi excitate simultan în condiţii normale, numai de către 2 obiecte, ceea ce a şi dus la formarea acestei asocieri.

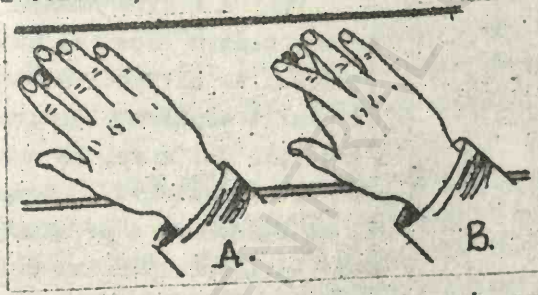


Fig.86. Experienţa lui Aristotel.

Pe timpul efectuării experienţei, examinatul stă cu ochii închişi, iar pentru a accentua efectul, plimbăm bila pe masă.

57. SENSIBILITATEA TERMICA.

A. Termoestezîometria.

Corpusculii lui Krause sînt receptori pentru rece, iar corpusculii lui Ruffini sînt receptori pentru cald. Temperaturile foarte joase sau foarte ridicate, stimulează receptorii de durere. Termore-

ceptorii pentru rece sînt localizaţi mai superficial în grosimea pielii(la adîncimea de 0,16 mm).Numărul lor la om ajunge la 250.000.Termoreceptorii pentru cald sînt mai puţin numeroase(aproximativ 30.000) şi sînt localizaţi în straturile mai profunde ale pielii(în medie la o adîncime de 0,3mm).La om termoreceptorii nu sînt uniform repartizaţi pe corp.

Material necesar: termoesteziometru; un şablon de hîrtie,avînd decupat un pătrat cu suprafaţa de 1 cm^2.

Termoesteziometru este format dintr-un tub de sticlă în formă de con, la care partea lărgită se astupă cu un dop(Fig.87,B,1).In vîrful conului se sudează o tijă, confecţionată dintr-un metal cu o conductibilitate termică înaltă(Fig.87,B,2).Un termoesteziometru pentru rece, poate fi sub forma celui reprezentat în Fig.87,A, care are fixat pe bara de lemn,un conductor de cupru terminat sub forma unei bile.In momentul folosirii, se răceşte bila la ghiaţă.

Mod de lucru: pentru determinarea densităţii punctelor pentru rece, se umple termoesteziometru (termoda) cu ghiaţă, se acoperă cu dop, iar vîrful se aplică pe zona de piele aleasă (degete de la mînă, antebraţ, braţ, spate, faţa).La fiecare atingere examinatul comunică senzaţia de tact sau rece pe care o simte.

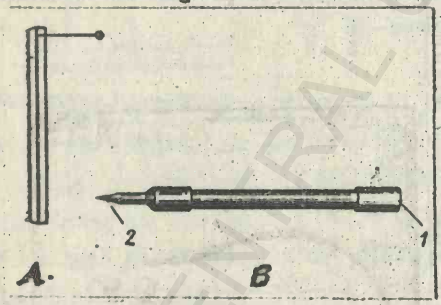


Fig.87.Termoesteziometre. (explicaţia în text)

Pentru a afla numărul de puncte pentru rece, se aplică şablonul de hîrtie(1 cm^2) pe zona pielii explorată.Pentru a avea o precizie mai mare, la numărarea punctelor sensibile la temperatură, se recomandă a se atinge succesiv termoesteziometru după o linie în zigzag, plecînd din unghiul stîng de sus, spre unghiul drept de jos(în total 50 atingeri).Zona de piele sensibilă la frig, se marchează cu vîrful unui creion.

Numărarea punctelor pentru cald se efectuează prin acelaşi procedeu, umplînd termoda cu apă de 50-60°C.

Recomandări:se va afla numărul punctelor pentru cald şi rece pe 1 cm^2 suprafaţă a pielii din zonele:degetele mîinii, antebraţ, braţ, spate,faţă.

B.Zona termică fiziologică zero şi modificările ei adaptative.

Punem în 5 cristalizoare de sticlă apă la temperaturile de 20,25, 30,35,40°C.Introducem aceeaşi porţiune de mînă, succesiv, la intervale de 2-3 minute, în fiecare din paharele de mai sus. Zona termică, care nu determină apariţia senzaţiilor de cald sau rece, se numeşte indiferentă sau zona fiziologică zero.Această zonă se modifică în funcţie de adaptarea termică anterioară.Demonstrăm astfel:în 3 cristalizoare, turnăm apă la temperaturile de 10, 20,35°C.Introducem mîna stîngă în apa la t° de 10°, iar mîna dreaptă-în apa cu t° de 35°C;vom simţi senzaţia de frig în mîna stîngă şi de cald-în mîna dreaptă.Ţinem mîinile în apă pînă dispar senzaţiile termice, ca urmare a adaptării(temperatura indiferentă). Cînd atingem această stare zero, transferăm ambele mîini în paharul cu apă la t° de 20°C.Vom simţi cald în mîna,care a stat anterior la frig, iar în mîna care a stat la cald, vom simţi rece.

Intrebări:Cum se codifică informaţia termică la nivelul receptorului şi a căii de conducere?

58.RECEPŢIA DUREROASA.

Receptorii de durere din tegument şi alte ţesuturi sînt reprezentate prin toate terminaţiile nervoase libere.Ele sînt larg răspîndite în păturile superficiale ale pielii cît şi în unele ţesuturi interne ca:periost, pereţii arteriali, suprafeţele de articulaţie, etc.

Densitatea fibrelor algice în tegument este foarte mare(100-200 puncte/cm^2).Zone foarte învecinate sau chiar identice ale tegumentului, sînt inervate de 2 neuroni diferiţi, ceea ce determină o mare capacitate de localizare a senzaţiilor de durere în tegument.

Material necesar:şablon de hîrtie avînd decupat un pătrat cu suprafaţa de 1 cm^2; ac ascuţit sau esteziometru lui Frey.Acesta este format dintr-un mîner, care la un capăt are fixat în unghi drept un ac ascuţit.

Tehnica: se aplică şablonul pe o zonă a tegumentului şi se marchează punctele apăsate, care dau naştere senzaţiilor de durere (nu de tact sau presiune).Se vor explora aceleaşi zone ca şi la esteziometrie.

Intrebări:Care sînt căile de conducere ale analizatorului dureros?

59. DETERMINAREA PRAGULUI SENSIBILITATII GUSTATIVE.

Se cunosc 4 tipuri de stimuli gustativi primari:acid, sărat, dulce şi amar, care dau naştere la 4 tipuri de senzaţii gustative primare:acid, sărat, dulce,amar.Numărul imens de diferite gusturi, pe care le poate percepe o persoană, rezultă din combinarea acestor 4 senzaţii primare, la care participă şi receptorii tactili, termici cît şi dureroşi ai mucoasei cavităţii bucale şi într-o măsură analizatorul olfactiv.Orice modificări ale metabolismului substanţelor, au repercursiumi asupra recepţiei gustative.Astfel în perioada iniţială a tuberculozei, cînd simptomele obiective încă nu sînt evidente, senzaţiile gustative pot fi modificate.Modificări gustative apar adesea în perioada geataţiei.

Pragul sensibilităţii gustative , pentru diferiţi stimuli gustativi, diferă.După cum este şi de aşteptat, avînd în vedere rolul protector al senzaţiilor gustative, valoarea cea mai scăzută a pragului prezintă stimulii amari.

Material necesar:soluţii de zaharoză,NaCl, acid citric şi chinină(fiecare în concentraţie de:1%, 0,1%, 0,01%, 0,001%), eprubete, apă distilată.

Tehnica: se încălzesc substanţele respective la 30°C.Se pregăteşte o serie de eprubete, care conţin cîte 5 ml de soluţie din substanţele de mai sus în concentraţie diferite.Se dă persoanei examinate cîte o eprubetă (care nu trebuie să cunoască conţinutul ei), începînd cu concentraţia cea mai mică, şi se invită să ţină în gură conţinutul eprubetei timp de 20-30 sec., după care să scuipe şi să precizeze gustul.După fiecare testare se spală gura cu apă distilată.Dacă subiectul nu poate percepe gustul substanţei, după clătirea gurii, se procedează la fel cu soluţia de concentraţie imediat superioară.Intre probe se lasă în mod obligatoriu să se scurgă un interval de cîteva minute.

Recomandări: se vor nota valorile de prag obţinute pentru fiecare substanţă cercetată şi se vor compara între ele.

Intrebări: ce modificări ale gustului vor apare la oameni cu leziuni ale nervului lingual?Cum ar putea afecta gustul, aspectul ambianţei în care se serveşte masa şi care ar fi mecanismul?

60. HARTA CIMPURILOR GUSTATIVE DE PE LIMBA .

Suprafaţa limbii nu prezintă o sensibilitate uniformă pentru cele 4 tipuri de excitanţi gustativi primari.Vîrful limbii prezintă cea mai mare sensibilitate pentru dulce; suprafaţa laterală a zonei mijlocii a limbii-pentru acizi(acru); baza limbii-pentru amar, iar vîrful şi marginile limbii-pentru sărat.Porţiunea mijlocie a suprafeţei dorsale a limbii este lipsită de sensibilitate gustativă.

Material necesar: zaharoză 40%, NaCl 20%, acid acetic 2%, chinină clorhidrică 1%, baghete subţiri.

Tehnica: subiectul supus experienţei este invitat să scoată limba.După ce limba se usucă, se pun succesiv cu o baghetă subţire, picături de zaharoză în zona vîrfului limbii, marginile laterale, baza şi zona mijlocie a limbii.După fiecare aplicare se chestionează subiectul asupra senzaţiei percepute şi se clăteşte gura cu apă distilată.Intervalul dintre observaţiile succesive nu trebuie să fie sub 2 minute.

Se fac aceleaşi operaţii cu celelalte substanţe.

Recomandări: datele obţinute se trec sub formă de puncte pe o hartă, care reprezintă într-o formă schematizată suprafaţa limbii.

Intrebări de control: Care este structura şi importanţa analizatorului gustativ? Care este importanţa factorilor reflex condiţionate în apariţia senzaţiilor gustative?

61.DETERMINAREA PRAGULUI ABSOLUT SI DIFERENTIAL AL ANALIZATORULUI MOTOR SAU CHINESTEZIC.

Unii receptori de la nivelul muşchilor sau tendoanelor(fusurile neuromusculare şi aparatul tendinos Golgi din tendoane), transmit impulsurile lor la nivelul măduvei spinării sau cerebelului, în vederea controlului contracţiilor reflexe ale muşchilor.Din cîte se cunoaşte pînă în prezent, aceste semnale acţionează în întregime la un nivel subconştient.

Termenul „chinestezia" înseamnă recunoaşterea conştientă a orientării diferitelor părţi ale corpului, unele în raport cu altele, cît şi gradul de mişcare a diferitelor părţi ale corpului. Aceste funcţii sînt deservite cu precădere de către terminaţiile

senzitive de la nivelul capsulelor articulare şi a ligamentelor.

Au fost descrise trei tipuri de terminaţii nervoase la nivelul capsulelor articulare şi a ligamentelor deasupra articulaţiilor.

1-Terminaţii nervoase libere, care se excită puternic la mişcări bruşte ale articulaţiilor; ele se adaptează uşor la început, dar după aceasta transmit semnale continuu.

2-Al doilea tip de terminaţii, seamănă cu receptorii Golgi din tendoane şi se găsesc cu precădere în ligamentele deasupra articulaţiilor.Prezintă în esenţă aceleaşi proprietăţi, ca şi primul tip de receptori.

3-La nivelul ţesuturilor, ce înconjoară articulaţiile, se găseşte un număr redus de corpusculi Paccini.Ei se adaptează foarte rapid şi, probabil, ajută la detectarea vitezei de mişcare la nivelul articulaţiei.

Semnalele chinestezice sînt transmise aproape în întregime prin fibre senzitive A beta, a căror viteză de conducere este foarte rapidă.Aceasta ajută sistemul nervos central de a cunoaşte în fiecare fracţiune de secundă, localizarea exactă a diferitelor părţi ale corpului; altfel ar fi imposibil de a se controla mişcarea viitoare.

Material necesar: dispozitiv pentru măsurarea pragului de sensibilitate al analizatorului chinestezic de la articulaţia cotului.

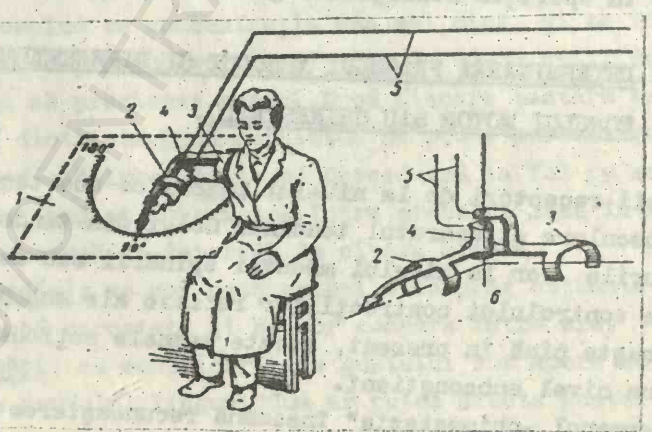


Fig.88.Dispozitiv pentru măsurarea pragului de sensibilitate al analizatorului chinestezic.1-tablă orizontală;2-manşeta fixă pe antebraţ şi braţ(3);reostat(4); 5-conductor la potenţiometru; 6--manşetă cu potenţiometru,locul articulaţiei şi acul indicator.

Mod de lucru:subiectul stă pe scaun cu ochii închişi şi aşează mîna pe tabla orizontală a dispozitivului(Fig.88,1).Braţul se fixează cu un manşon imobil(3), iar antebraţul se poate deplasa activ sau pasiv.Deplasările sînt indicate pe scală în grade, de către săgeata fixată de manşonul antebraţului.

1-Se va determina cel mai mic unghi de deplasare pasivă a articulaţiei, care este sesizat de subiect.Această mărime reprezintă pragul absolut al sensibilităţii chinestezice.

2-Se deplasează pasiv, sub un unghi peste prag, care este bine sesizat de subiect şi îi solicităm să repete mişcarea activ.Se stabileşte gradul de reproducere a mişcării articulaţiei.

3-Se va determina pragul de diferenţiere.In acest scop executăm 1-2 deplasări pasive, identice, în articulaţia cotului.După aceasta mărim amplitudinea primei deplasări a articulaţiei, iar cea de a doua deplasare rămîne constantă.Se va nota diferenţa minimă, în grade, între cele 2 deplasări, la care subiectul sesizează prima dată această diferenţă.Această mărime reprezintă pragul diferenţial al sensibilităţii motorii.

4-Se va repeta determinarea pragului absolut şi diferenţial, după obosirea prealabilă a muşchiului:ridicarea şi coborîrea de 10 ori a unei greutăţi de 5 Kg.

Acuitatea chinestezică depinde de vîrstă, profesie, calificare şi alţi factori.Repetarea mişcărilor prin antrenamente, duce la o intensificare a sensibilităţii chinestezice, putîndu-se astfel executa mişcări repetate cu mare precizie.

Recomandări: se vor nota valorile obţinute pentru pragu' absolut şi diferenţial al sensibilităţii chinestezice.

Intrebări de control.Care este mecanismul apariţiei diferitelor senzaţii chinestezice? Ce alte procedee ar putea fi folosite pentru explorarea sensibilităţii chinestezice?

ANALIZATORUL ACUSTIC.

Stimulul auditiv este reprezentat de vibraţiile sonore, avînd o frecvenţă cuprinsă între 16-20.000 Hz.Analizatorul auditiv realizează prin părţile sale componente analiza tonalităţii, a intensităţii şi timbrului sunetelor.El este alcătuit din:

1-Structuri adaptate captării şi transmiterii sunetelor: pavilionul urechii, conductul auditiv, urechea medie cu sistemul

de osigoare şi aparatul cochlear al urechii interne (aparatul de transmisie).

2-Structuri de recepţie a sunetelor şi de codificare a fenomenelor mecanice vibratorii în influx nervos; căi de transmitere a influxului şi centrii corticali de proiecţie.

62.ROLUL PAVILIONULUI URECHII.

Material necesar:tub de cauciuc de 2 m; ceasornic.

Principiul şi tehnica lucrării:se introduce un capăt al tubului de cauciuc în canalul auditiv extern.Prin aceasta s-a înlăturat funcţional pavilionul urechii.In cea de a doua ureche introducem un dop de vată.La capătul liber altubului de cauciuc întins, se ţine un ceasornic.Prin intermediul tubului se aud bătăile ceasornicului.Dacă se depărtează puţin ceasornicul de capătul tubului, nu se mai aude nimic.Scoţînd tubul din ureche, pot fi auzite bătăile ceasornicului, aflat la distanţa anterioară.

Dacă mărim pîlnia pavilionului urechii cu ajutorul mîinii, putem auzi zgomotul ceasului, care se află la o distanţă mult mai mare, comparativ cu distanţa normală de auz.Prin aceste experienţe am demonstrat rolul pavilionului în captarea sunetelor.

Rol în localizarea sursei sonore: ambele capete ale tubului de cauciuc se introduc în cele 2 canale auditive externe.Persoana examinată stă cu ochii închişi.Se aşează ceasornicul la mijlocul tubului de cauciuc, după care plimbăm tubul de cauciuc în faţa persoanei, deasupra capului, în spate, stînga, dreapta,etc. şi chestionăm persoana asupra localizării sunetului.Niciodată ea nu va putea determina direcţia corectă a sunetului.

Se pune ceasornicul pe tubul de cauciuc mai aproape de ureche stîngă, după care mutăm succesiv tubul cu tot cu ceasornic, în diferite poziţii şi de fiecare dată solicităm persoana, să localizeze sunetul.De fiecare dată ea îl va localiza de partea stîngă.

Determinarea rolului urechii în localizarea sursei sonore, se poate face folosind dispozitivul schematizat în Fig.89.

Localizarea sursei sonore se face prin cel puţin două mecanisme: 1-diferenţa de timp între pătrunderea undei sonore în cele 2 urechi; 2- diferenţa sonorităţii sunetelor în cele 2 urechi.

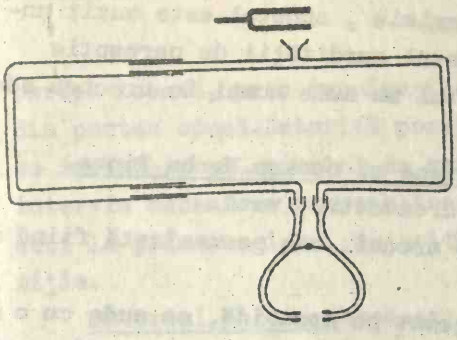


Fig.89.Diferenţa de fază binaurală.

Primul mecanism funcţionează mai bine la frecvenţe sub 3000 Hz iar cel de al 2-lea- la frecvenţe mai mari, deoarece la această frecvenţă, capul acţionează ca o barieră.Cu ajutorul primului mecanism localizarea se face mai exact.Unii subiecţi pot detecta diferenţe în sosirea undelor sonore la cele 2 urechi de 0,01 milisecunde.

Intrebări: Ce rol are pavilionul urechii? Ce rol are conductul auditiv extern?

63.TRANSMITEREA SUNETELOR PRIN OASELE CUTIEI CRANIENE.

Afară de conducere aeriană a undelor sonore, este posibilă transmiterea lor direct prin oasele cutiei craniene.Transmiterea în acest din urmă caz este mai puţin eficace.Pe capacitatea oaselor de a transmite vibraţiile sonore, se bazează unele teste medicale de stabilire a tipurilor de surditate.Ca mecanism de producere surditatea poate fi de transmisie,interesînd sistemul de transmitere a sunetelor din conductul auditiv pînă la receptori; surditate de percepţie, produsă de leziuni pe traiectul receptor pînă la capătul cortical inclusiv şi surditate mixtă, produsă prin ambele procese.

Proba Weber. Material necesar:diapazon; vată; tub cauciuc.

Diapazonul în vibraţie aşezat pe frunte sau pe vertex, este auzit în condiţii normale cu aceeaşi sonoritate , în ambele urechi (Weber indiferent).Dacă punem un tampon de vată în una din urechi, atunci sunetul perceput de urechea respectivă va fi mai puternic, ca urmare a diminuării pierderii energiei sonore prin conductul auditiv extern.

Pentru a dovedi că o parte din energia sonoră, difuzează prin conductul auditiv extern, unim urechile a două persoane cu un tub de cauciuc şi aşezăm diapazonul în vibraţie pe capul unei persoane. Cea de a doua persoană va auzi sunetul ca urmare a transmiterii undelor sonore din conductul auditiv extern al primei persoane.

In cazul surdităţii de transmisie , sunetul este auzit numai în urechea bolnavă, iar în cazul surdităţii de percepţie (leziunea urechii interne), sunetul se aude numai în urechea sănătoasă.

Compararea transmiterii aeriene şi osoase.Proba Rinne.

Material necesar: diapazon;cronometru; vată.

Proba se face pentru ambele urechi, cea neexaminată fiind astupată cu vată umezită.

Un diapazon în vibraţie, aşezat pe mastoidă, se aude cu o sonoritate care scade treptat iar la un moment dat dispare(aproximativ 20 sec.).Dacă îl aşezăm imediat în faţa pavilionului,va mai fi auzit încă 40 secunde(Rinne pozitiv normal).Ce demonstrează această experienţă? Dacă e auzit pe mastoidă, dar în faţa pavilionului, diapazonul nu mai este auzit,aceasta constituie un indiciu de lezare a aparatului de transmisie(Rinne negativ).Auzirea mai puţin de 40 sec. în faţa pavilionului, indică surditate de percepţie(Rinne pozitiv prescurtat).

Recomandări:se vor nota rezultatele obţinute.

Intrebări:ce segment din analizatorul acustic este afectat în cazul în care: a)-urechea stîngă recepţionează mai bine sunetele prin transmisie osoasă; b)-urechea dreaptă recepţionează rău sunetele atît prin transmisie osoasă cît şi aeriană?

64.EXTIRPAREA APARATULUI VESTIBULAR LA BROASCA.

Aparatul vestibular conţine în utriculă, sacculă şi ampulele canalelor semicirculare receptori, care nu au legătură directă cu receptorii auditivi din cochlee, ci recepţionează excitaţiile legate de echilibru.

Pe cale reflexă receptorii vestibulari contribuie la menţinerea poziţiei normale a capului la animalul imobil(reacţii statice, de postură care se efectuează prin maculele din utriculă şi sacula) sau declanşează reflexe la acceleraţii imprimate capului(reacţii de echilibrare(redresare), prin canalele semicirculare, ai căror receptori diferenţiaţi sînt crestele).

Labirintectomia bilaterală determină o pierdere accentuată, cu caracter temporar, a tonusului musculaturii corpului.Prin leziuni unilaterale, se produce o înclinare a capului spre partea lezată, ca rezultat al predominării tonusului muşchilor cefei din

partea lezată, prin impulsurile eferente ale labirintului integru din partea opusă.Datorită poziţiei vicioase a capului, trunchiul se încovoaie şi animalul se roteşte în jurul său.După un timp intervin mecanisme compensatoare proprioceptive şi vizuale, îndeosebi la primate şi om, datorită cărora animalul îşi corectează poziţia.

Material necesar:broasca; ac spatulat;acvariu mare;pensă hemostatică;bisturiu.

Mod de lucru:se fixează broasca pe plută cu faţa ventrală în sus.Se deschide gura, se scoate limba pe care o prindem cu o pensă hemostatică şi împreună cu mandibula se trage spre abdomen.

Se secţionează pe linia mediană mucoasa vălului palatin deasupra osului parasfenoid şi cele 2 laturi ale secţiunii, se trag de o parte şi alta pînă în dreptul cavităţilor orbitale.Ne apar 2 oase transversale ale parasfenoidului.Radem cu bisturiul periostul de pe oasele transversale.In zonele laterale ale osului parasfenoid se văd prin transparenţă cîte un inel albicios, care reprezintă canalele semicirculare(Fig.90).Introducem la acest nivel un ac spatulat(la adîncime de 1-2 mm) şi-l rotim de cîteva ori.Broasca suportă relativ uşor această operaţie.Eliberăm broasca. După cîteva minute se observă poziţia caracteristică, cu înclinarea capului spre partea operată.Excitînd mecanic piciorul posterior, broasca execută mişcări nu în linie dreaptă ci în cerc, cu direcţia spre partea lezată.Pusă în acvariu, execută mişcări de înot circulare.

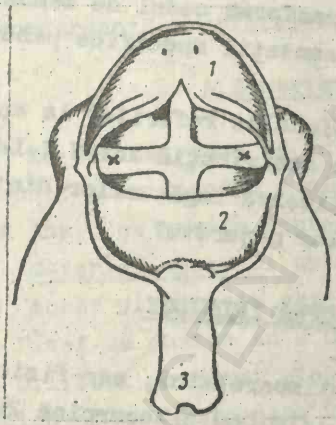


Fig.90.Schema labirintectomiei la broască. 1-maxilarul superior;2-maxilarul inferior;3-limba scoasă din cavitatea bucală.Prin x sînt marcate locurile aparatului vestibular.

După distrugeri bilaterale ale aparatului vestibular, broasca rămîne imobilizată în primele momente după operaţie.Prin atingeri execută mişcări necoordonate, cade uşor îndeosebi pe spate.După un timp reapare capacitatea de a executa deplasări mici, orientarea în acest caz se realizează cu ajutorul vederii.Dacă-i astupăm ochii(cu leucoplast),broasca rămîne complet neajutorată şi se comportă ca şi în primele momente postoperatorii.

Recomandări: se va schiţa poziţia broaştei după labirintectomie.
Intrebări de control:Cum se va modifica tonusul muşchilor flexori şi extensori după extirparea unilaterală a labirintului:a)-pe partea lezată; b)-pe partea opusă.

ANALIZATORUL OPTIC.

65.EXCITAREA MECANICA A OCHIULUI.

Excitantul adecvat al analizatorului optic, este energia luminoasă-oscilaţiile electromagnetice cu o lungime de undă de 302-950 mp.

Ochiul poate fi excitat şi de către excitanţi inadecvaţi:închideţi pleoapele şi apăsaţi puternic pe globul ocular.Descrieţi senzaţia apărută.Aceste senzaţii luminoase poartă denumirea de fosfene.Aceasta demonstrează teoria specificităţii organelor de simţ, conform căreia, ca rezultat al evoluţiei, receptorul răspunde la orice excitant, adecvat sau inadecvat, pe linia specializării sale, deoarece nu foloseşte decît informaţia codificată pentru care s-a specializat.Sistemul nervos central transformă codul de semnalizare aferent, corespunzător cu tipul de senzaţii specifice pentru organul receptor dat.

Intrebări:Ce susţine Müller şi Helmholtz referitor la specificitatea organelor de simţ? Care este contribuţia lui V.I.Lenin, creatorul teoriei reflectării, în explicarea legăturilor dintre calităţile excitanţilor şi a senzaţiilor generate?

66.ACŢIUNEA UNOR SUBSTANŢE ASUPRA IRISULUI.

Material necesar:broaşte; cristalizoare mici; ser fiziologic; trusă de disecţie;soluţie adrenalină 1/10.000;pilocarpină 2%; acetilcolină 1/100.000; atropină 1%.

Mod de lucru:se pregătesc 5 cristalizoare mici.Intr-un cristalizator punem soluţie fiziologică, iar în celelalte- cîte una din soluţiile indicate mai sus.

Se paralizează broasca şi se fixează pe plută cu faţa dorsală în sus.Se enucleză ambii ochi de la fiecare broască, cu ajutorul unui foarfece fin (a nu se leza globii oculari).Introducem cîte un ochi în soluţiile de mai sus.După aproximativ 1/2 oră se exa-

minează ochii, comparîndu-i cu cel care a stat în soluţie fiziologică, care serveşte drept martor.Se constată că ochii, care au stat în soluţie de adrenalină şi atropină au pupila mărită-midriază- iar ochii care au stat în soluţia de pilocarpină şi acetilcolină, au pupila micşorată-mioza.

Adrenalina are acţiune simpaticomimetică, provocînd contracţia muşchilor radiari ai irisului şi, ca urmare,dilarea pupilei-midriaza-.Atropina este o substanţă parasimpaticolitică şi ca urmare devine predominant tonusul muşchilor radiali.

Acetilcolina şi pilocarpina au acţiune parasimpaticomimetică, provocînd contracţia muşchilor circulari ai irisului şi micşorarea pupilei-mioza.

Intrebări:Cum se realizează reflexul pupilar?

67.ACOMODAREA OCHIULUI.

Prin acomodare se înţelege adaptarea ochiului pentru perceperea clară a obiectelor.Ea se reduce la focalizarea pe retină a imaginilor obiectelor aflate la diferite distanţe.La animale superioare şi om, acomodarea se realizează prin modificarea puterii de convergenţă a cristalinului.

A.Experienţa lui Scheiner.

Ea demonstrează că într-un anume moment cristalinul poate fi acomodat numai pentru o singură distanţă, iar obiectele care se află înaintea sau în spatele acestui plan, se percep difuz.

Material necesar: optometru Scheiner.

Acest dispozitiv este format dintr-o linie, care la un capăt are fixat un carton cu 2 orificii(α şiβ) pentru ochi;distanţa dintre orificii este mai mică decît Ø pupilei(aproximativ 2 mm).Perpendicular pe linia care uneşte cele 2 orificii, se află aşezate 2 bolduri, care se pot deplasa(Fig.91).

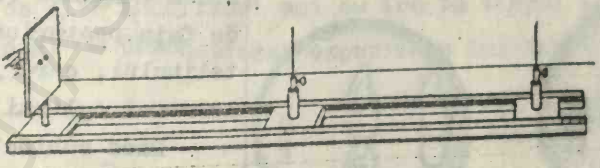


Fig.91.
Optometru Scheiner.

Aşezăm primul bold la o distanţă de ochi, la care va fi văzut clar (aproximativ 15 cm), iar cel de al 2-lea îl depărtăm cu 1 m.

Se închide un ochi, iar cu celălat ne uităm prin orificiile din carton şi fixăm primul bold.Cînd primul bold îl vedem clar, cel de al 2-lea ne apare dublu şi invers.

Acoperim un orificiu cu o foaie.Care din cele 2 imagini duble dispare?De ce? Formarea imaginilor pe retină a bolduri-lor, în cele 2 cazuri de acomodare, este indicată în Fig.92.

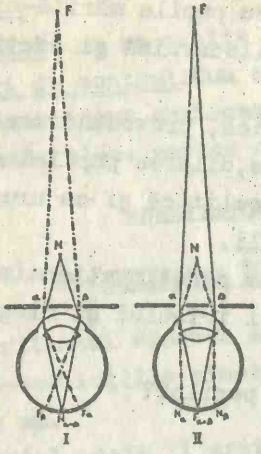


Fig.92. Experienţa lui Scheiner. I-Formarea imaginilor pe retină a obiectelor N şi F la ochiul acomodat pentru vederea de aproape; II-ochi focalizat pentru punctul distal F. α şi β-orificiile din carton.

B. Imaginile lui Purkinje-Sanson.

Ele demonstrează mecanismul de acomodare a ochiului pentru distanţă.

Material necesar:o lumînare; cameră obscură.

Mod de lucru:observaţiile se efectuează într-o cameră întunecată.Se aşează o lumînare la nivelul ochilor persoanei examinate, la o distanţă de 30-50 cm, puţin lateral şi în faţă(de localizarea lumînării depinde claritatea imaginilor).Persoana priveşte un punct în depărtare.Privind ochiul examinat, din partea opusă lumînării, putem observa 3 imagini ale lumînării, dintre care 2 sînt drepte şi una răsturnată(Fig.93).Cea mai luminoasă(1) este dată de reflectarea razelor de faţa anterioară a corneei, care se comportă ca o oglindă convexă, imaginea fiind dreaptă.Imaginea mijlocie(2) este de asemenea dreaptă, ceva mai mare şi mai difuză, fiind dată de faţa anterioară a cristalinului, care se comportă tot ca o lentilă convexă.A treia imagine(3) este mai mică, răsturnată şi reprezintă imaginea reflectată de faţa posterioară a cristalinului, care joacă rolul unei oglinzi concave.

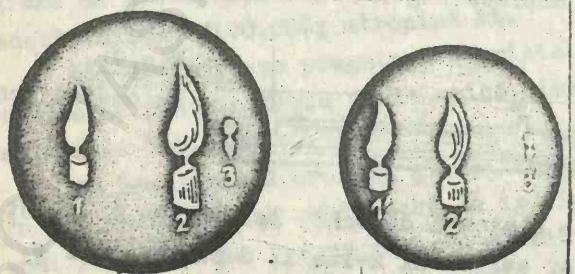


Fig.93.

Dacă subiectul priveşte un obiect apropiat, se constată că prima imagine

nu-şi modifică dimensiunile, imaginea a doua se apropie de prima şi devine mai mică, ca urmare a măririi convexităţii feţei anterioare a cristalinului, iar cea de a treia se deplasează în spate şi se micşorează puţin(Fig.93,B).Deci, ambele feţe ale cristalinului îşi măresc convexitatea, modificări mai mari au loc la nivelul feţei anterioare a cristalinului.

După Helmholtz modificarea curburii cristalinului se realizează în felul următor:cînd ochiul este acomodat pentru vederea la distanţă, ligamentul suspensor, care este fixat de capsula cristalinului, este supus unei tensiuni, datorită tracţiunii exercitate de corpul ciliar şi coroidă(Fig.94,95).In timpul acomodării pentru vederea apropiată, fibrele tensoare ale muşchiului ciliar se contractă şi trag coroida şi întregul proces ciliar spre înainte şi interior.Ca urmare tracţiunea exercitată asupra ligamentului suspensor este micşorată, ceea ce permite cristalinului să ia o formă mai bombată în virtutea elasticităţii sale proprii.

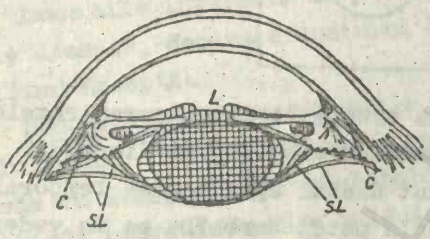


Fig.94.Mecanismul de acomodare al ochiului pentru vederea apropiată.Cristalinul haşurat cu linii orizontale şi irisul nehaşurat=poziţia în repaos;haşurările respective verticale=acomodarea pentru vederea apropiată.C-m.ciliar S.L-ligament suspensor.

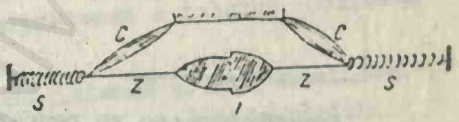


Fig.95.Mecansimul acomodării. C-muşchiul ciliar relaxat(în stînga) şi contractat(în dreapta);S-un arc,reprezentînd coroida elastică;I-cristalinul adaptat pentru vederea la distanţă,în porţiunea stîngă a secţiunii şi pentru vedere în apropiere(în dreapta);Z-zonula.

Intrebări de control: Ce formă are un cristalin extirpat şi pus în soluţie fiziologică? Afară de modificările aparatului dioptric, ce alte modificări mai au loc în timpul acomodării la vederea apropiată? Ce demonstrează experienţa lui Scheiner?

68. RETINA .

A.Demonstrarea petei oarbe.Experienţa lui Mariotte.

Material necesar: o bucată de hîrtie neagră, pe care la distanţa de 7 cm (cît este aproximativ distanţa dintre cele 2 pupile) se fac 2 repere albe(o cruce şi un disc)(Fig.96).

Mod de lucru:Se închide ochiul stîng, iar ochiul drept priveşte fix crucea.Se deplasează hîrtia înainte şi înapoi, privind continuu crucea, pînă cînd la un moment dat imaginea discului dispare.In acest moment razele luminoase, pornite din reperul alb mare, după refractarea în cristalin, se proiectează pe retină în dreptul petei oarbe, zonă lipsită de elemente fotosensibile.

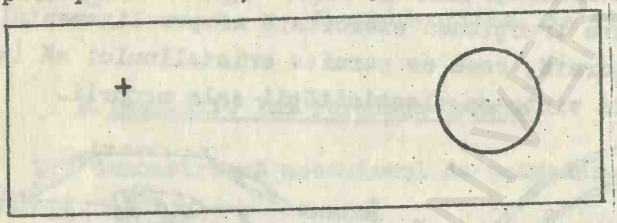


Fig.96. Experienţa lui Mariotte.

Recomandări:se va reprezenta schematic focalizarea razelor pe retină a celor 2 repere în momentul dispariţiei discului.

Intrebări:De ce trebuie ţinut discul spre partea temporală a retinei, cînd demonstrăm prezenţa petei oarbe?De ce în vederea binoculară nu avem goluri în cîmpul vizual?

B.Demonstrarea petei galbene.Experienţa lui Maxwell.

Material necesar:soluţie de alaun de crom 5%; flacon cu pereţii plani de aproximativ 5 cm grosime; ecran alb luminat puternic.

Mod de lucru:după dizolvarea soluţiei de alaun de crom, se filtrează şi se umple flaconul.Prin această soluţie pot trece numai radiaţiile albastre, verzi şi roşii.

Subiectul ţine ochii închişi timp de un minut.Experimentatorul aranjează flaconul în faţa ochilor subiectului şi comandă acestuia să deschidă un ochi pentru a privi prin soluţie ecranul alb luminat.Subiectul declară că vede un punct roşu, oval sau rotund, pe fondul albastru-verzui.Este imaginea petei galbene.Pigmentul galben absoarbe radiaţiile verzi, albastre, violet, forţa de absorbţie crescînd progresiv spre violet.

C.Formarea imaginii pe retină.

Material necesar: ochi de iepure albinos;plastilină;lumînare.

Mod de lucru:se aşează un ochi extirpat, într-un loc fix cu ajutorul plastilinei, lăsînd libere polul anterior şi posterior al globului ocular.Intr-o cameră întunecată, se aşează o lumînare aprinsă în faţa ochiului, la o distanţă de 1/2 m şi se examinează imaginea inversată a lumînării, observată la polul posterior al globului.

Recomandări: de reprezentat schematic un ochi, marcînd punctul nodal la 15 mm în faţa retinei(la om) şi de construit imaginea lumînării pe retină.

D.Rectificarea cerebrală a unei imagini retiniene.

Imaginile inversate de pe retină sînt percepute de noi în poziţie dreaptă, deoarece creierul interpretează o imagine inversată ca fiind dreaptă.

Mod de lucru: se priveşte o lumină intensă printr-un mic orificiu, făcut într-un carton pe care îl ţinem aproape de pupilă. Plasăm cu atenţie capul unui bold între pupilă şi orificiu, în aşa fel, încît umbra dreaptă a boldului să cadă pe retină.Vom observa capul boldului răsturnat.

Recomandări:se va explica această iluzie aparentă şi se va reprezenta schematic formarea umbrei boldului pe retină. Boldul va fi plasat în focarul principal al ochiului.

E.Observarea stratului vascular al retinei(figurile lui Purkinje).

Vasele sanguine ale retinei sînt localizate la nivelul retinei, în faţa celulelor cu conuri şi bastonaşe, încît lumina trebuie să treacă prin ele înainte de a ajunge la elementele fotoreceptoare.Totuşi, în condiţii obişnuite de iluminare, noi nu percepem umbra acestor vase, probabil, din cauza posibilităţii de adaptare a sensibilităţii retiniene cît şi datorită faptului că,umbra care cade pe retină este difuză iar sensibilitatea retinei,situate dedesubtul vaselor, ar fi mărită(Helmholtz).Totuşi, atunci cînd lumina este proiectată în ochi sub un unghi, care aruncă o umbră a vaselor pe o zonă a retinei, neobişnuită să le primească,ele de-

vii. vizibile.

Material necesar: lanternă,lupă cu distanţă focală mică,ecran alb.

Mod de lucru:lucrarea se efectuează într-o cameră întunecată. Subiectul ţine un ochi închis iar cu celălalt,înclinat spre nas, priveşte ecranul din faţă.Un fascicul luminos de la o lanternă, îl focalizăm cu o lupă în colţul temporal extern al scleroticii subiectului.Subiectul vede pe ecran un cîmp intens luminat, pe care se văd figurile Purkinje, ce reprezintă umbrele vaselor retinei.

Recomandări: se vor construi imaginile vaselor pe retină.

F.Rodopsina.

Rodopsina este un pigment fotosensibil de culoare roz-roşiatică, existent în segmentele externe ale bastonaşelor.Cînd este decolorată de lumină, ea capătă mai întîi o culoare portocalie, care trece repede în galben, ajungînd în cele din urmă incoloră.

Experienţa pe broaşte. Material necesar:broaşte care au stat 24 ore la întuneric;trusă de disecţie;cristalizor; soluţie fiziologică, cameră obscură.

Mod de lucru. Se lasă broasca 24 ore la întuneric înainte de experienţă.Experienţa se efectuează în cameră obscură la lumina roşie.După paralizarea broaştei, se enucleează ochii; prin secţiune frontală se scoate corpul sticlos, se separă retina, pe care o punem într-un cristalizor cu soluţie fiziologică, şi-l acoperim.Se scot cristalizoarele la lumină şi descoperim unul din ele.Se observă retina colorată purpuriu, care se decolorează sub privirea noastră, în timp ce retina din celălalt cristalizor(deschidem pentru moment capacul şi ne uităm rapid) rămîne colorată.

Experienţa lui Kühne pe iepure.Material necesar: iepure care a stat cîteva zile la întuneric complet;soluţie de alaun de Fe şi NH_3 5%.

Mod de lucru: scoatem iepurele din camera obscură şi-l ţinem în faţa unui obiect, ale cărui lumini şi umbre sînt net conturate (de exemplu, un geam de sticlă transparent cu benzi negre fixate la distanţă de 5 cm).Expunerea animalului se face timp de 10-30 sec. la distanţa de 25 cm faţă de obiectul luminat.După aceasta, la întuneric, se scoate ochiul(sub narcoză) şi se fixează imaginea de pe retină cu soluţie de alaun.Obţinem pe retina prelucrată

în acest fel optograma-imaginea pe retină a obiectului expus. Imaginea este provocată de decolorarea rodopsinei numai în locurile în care părţile luminoase ale imaginii, cad pe bastonaşe.

O optogramă mai bună se obţine pe iepure curarizat sau cu globul ocular imobilizat cu ajutorul legăturilor şi prin adăugarea pe ochi a 1-2 picături de atropină(De ce?).Timpul de expunere la lumină este în funcţie de intensitatea luminii şi durează cam 10-60 secunde.

Intrebări de control: Care este ciclul rodopsinei?

69.DETERMINAREA CIMPULUI VIZUAL.

Cîmpul vizual al unui ochi este acea parte a lumii exterioare, cuprinsă de acest ochi, în momentul în care privirea este fixată într-o anumită direcţie.Cîmpul vizual al fiecărui ochi cuprinde un unghi de circa 160° în meridianul orizontal şi 145° în cel vertical.O linie verticală, care trece prin punctul de fixare, împarte cîmpul vizual într-o parte externă sau temporală şi una internă sau nazală.Partea internă este mai mică datorită umbrei nasului şi are o deschidere de aproximativ 60°.O linie orizontală, care trece prin punctul de fixare,divide cîmpul vizual într-o porţiune superioară şi una inferioară, prima fiind redusă cu 3-10° de pleoapa superioară şi marginea orbitei.

Determinarea cîmpului vizual prezintă şi importanţă clinică în stabilirea leziunilor la nivelul retinei sau a căilor optice. O metodă exactă pentru determinarea cîmpului vizual este aceea a perimetriei, care utilizează ca instrument de măsură perimetrul. O metodă simplă, dar neprecisă, de perimetrie, este procedeul confruntării.

Material necesar:perimetrul.

Mod de lucru: perimetrul cuprinde un braţ metalic de forma unui arc de cerc mare, cu concavitatea îndreptată spre subiect(Fig 97a).Arcul este divizat din 10 în 10° de la 0 la 100°.Un suport care alunecă pe suprafaţa arcului, susţine obiectul test, care poate fi deplasat astfel spre centru sau periferie.Braţul metalic este mobil în centrul său, putînd fi rotit cu orice unghi, gradul de înclinare faţă de planul vertical zero, fiind indicat de o săgeată prinsă la locul de fixare a arcului de suport.

Capul subiectului se sprijină cu bărbia pe un suport special

pentru bărbie(Fig.97 a3), aşezat în faţa braţului metalic.Subiectul se aşează cu spatele spre lumină(perimetrul trebuie să fie bine iluminat), potriveşte înălţimea suportului bărbiei şi fixează cu un ochi punctul alb situat în centrul braţului metalic.Celălalt ochi este acoperit cu palma.

Experimentatorul aşează arcul în plan vertical şi deplasează obiectul test dinspre periferie spre centru, pînă cînd subiectul, a cărui privire este aţintită tot timpul asupra punctului alb,sesizează apariţia obiectului test în cîmpul său vizual.Se notează numărul de grade de pe arc, la care apare testul.Braţul metalic este rotit treptat din 30 în 30° pînă la 360° şi în fiecare poziţie nouă pe care i-o dăm, se deplasează obiectul test spre centru pînă cînd este perceput de subiect.Toate aceste puncte (numărul de grade de pe arc), corespunzătoare fiecărei poziţii a braţului, sînt notate pe o diagramă perimetrică, prin unirea cărora se obţine delimitarea conturului cîmpului vizual(Fig.97 B).

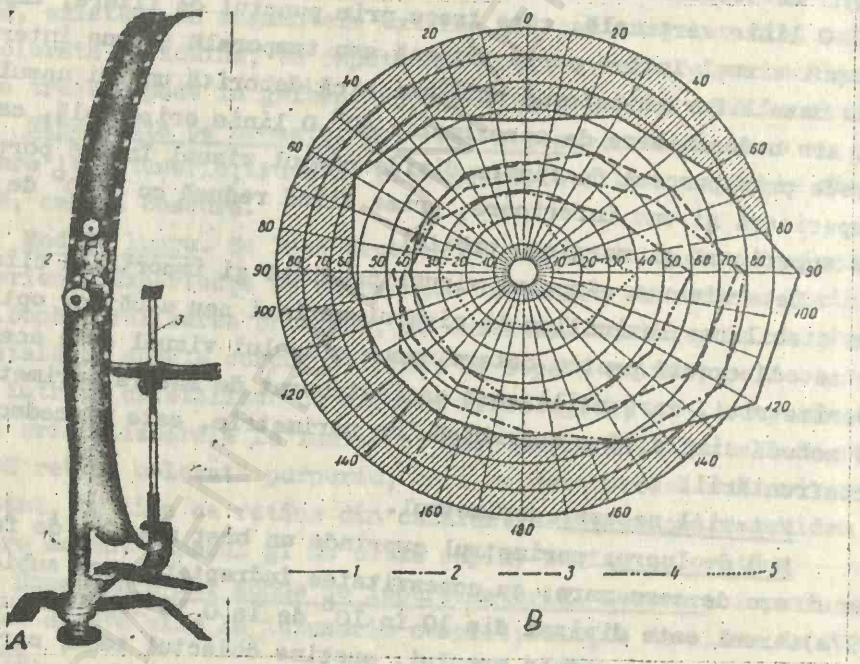


Fig.97.Determinarea cîmpului vizual.A-perimetrul.1-suport; 2-arcul metalic subdivizat în grade;3-suportul bărbiei.B-cîmpul vizual al ochiului drept.1-cîmpul vizual pentru alb;2-pentru galben 3-pentru albastru;4-pentru roşu şi 5-pentru verde.

Diagrama perimetrică este împărţită în cercuri(comparabile cu ale unei hărţi geografice), care indică gradele de la punctul

de fixare, şi în linii radiare(meridiane), care arată înclinarea braţului metalic.

Cîmpul vizual pentru culori.Schimbăm obiectul test cu o culoare şi determinăm în acelaşi mod cîmpul vizual pentru culoarea respectivă.Deplasarea testului se face pînă cînd subiectul percepe culoarea respectivă şi nu numai simpla apariţie a unui obiect oarecare în cîmpul vizual.

După determinarea cîmpului vizual pentru un ochi, se repetă aceleaşi operaţii pentru celălalt ochi.

Metoda confruntării: observatorul se plasează la aproximativ 60 cm în faţa pacientului.Unul din ochii acestuia este acoperit, în timp ce ochiul celălalt, fixat asupra ochiului opus al examinatorului, este cercetat.

Examinatorul ţine un deget la mijlocul distanţei dintre el şi pacient, dar înafara propriului său cîmp vizual, mişcîndu-l apoi încet către linia mediană.Examinatorul compară poziţia în care începe să-şi vadă degetul, cu aceea în care acesta începe să fie văzut de pacient.Se repetă aceeaşi mişcare în diferite direcţii, în sus, în jos şi lateral.

Recomendări:se va determina cîmpul vizual pentru alb,albastru, roşu şi verde.Pentru a vedea mărimea cîmpurilor mono- şi binoculare, se va proiecta pe aceeaşi diagramă perimetrică cîmpurile vizuale ale celor 2 ochi.

Intrebări de control. Cum se va modifica cîmpul vizual al ochiului drept şi stîng după: 1-secţiunea nervului optic stîng; 2-secţiunea tractului optic drept;3-secţiunea ambilor nervi optici. Ce repercursiuni va avea asupra cîmpului vizual, secţiunea longitudinală mediană a chiasmei optice? De ce cîmpurile vizuale pentru culori sînt mai mici, decît cîmpul pentru alb-negru? Indicaţi un alt procedeu prin care se poate determina cîmpul vizual.

BCU IASI

70.REGLAREA ACTIVITATII ANALIZATORILOR.

Perceperea lumii exterioare de către om este condiţionată nu numai de recepţionarea directă a excitaţiilor, ci şi de acele legături reflexcondiţionate, care s-au format în decursul vieţii.Ele pot completa sau modifica tabloul real al realităţii recepţionate. Acestor fenomene aparţin iluziile optice.Creierul poate fi înşelat de imitaţiile anumitor efecte, pe care se bazează aprecierile noastre vizuale asupra dimensiunilor formelor şi distanţelor obiectelor.Astfel dacă privim cele 2 linii orizontale, terminate cu săgeţi orientate în mod diferit, avem impresia că linia cu săgeata orientată extern, este mai lungă.Iluziile optice pot fi demonstrate şi pe celelalte desene din Fig.98.

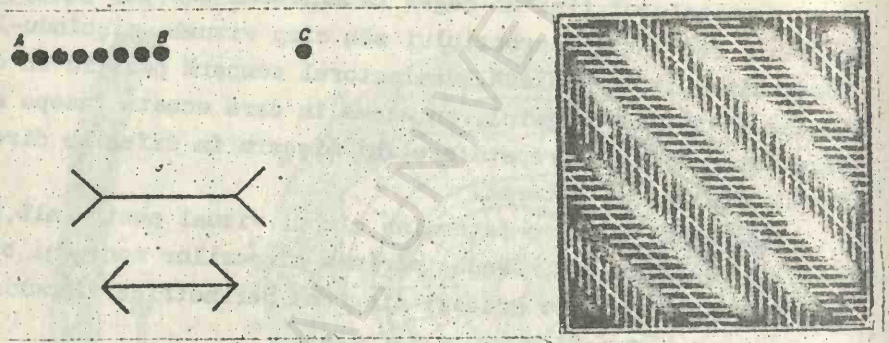


Fig.98. Iluzia optică. Distanţa de la A la B pare mai mare decît aceea de la B la C;ele sînt identice.Iluzie a dimensiunilor. Liniile orizontale sînt de aceeaşi lungime.Liniile lui Zollner. Liniile lungi diagonale par convergente; în realitate, ele sînt paralele.

Dacă executăm în faţa noastră mişcări circulare mici a desenului de pe Fig.99, vom avea senzaţia de rotire a discurilor în direcţia de rotire a desenului, iar roata dinţată centrală-în direcţie opusă.Una din explicaţii ar fi aceea că porţiunile albe de pe desen, sînt recepţionate succesiv, în diferite locuri din spaţiu, ceea ce creiază efectul de mişcare.

Spre deosebire de senzaţii, percepţiile reflectă nemijlocit lucrurile,obiectele şi fenomenele în întregime, ignorînd uneori proprietăţile lor nesemnificative.Percepţiile au un caracter selectiv.Din multitudinea obiectelor, care ne înconjoară, noi observăm

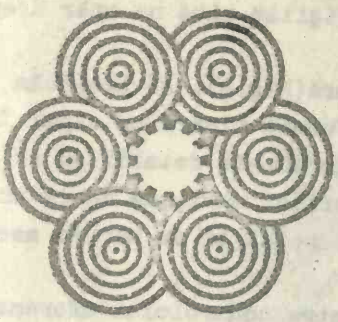


Fig.99.

acelea care ne sînt mai necesare. Aici intervine fenomenul de atenţie. Mecanismul atenţiei încă nu este cunoscut, dar unele explicaţii au început să apară.Astfel, atenţia distributivă ar fi determinată de acţiunea formaţiei reticulate mezencefalice asupra activităţii corticale cerebrale, iar concentrarea atenţiei ar fi determinată de intervenţia formaţiei reticulate talamice, care prezintă proprietatea de excitare mai localizată a unor arii corticale, cît şi prin proprietatea zonelor corticale de a-şi controla aferenţele sale proprii, prin aferentaţie inversă.

Selectivitatea percepţiilor, poate fi uşor demonstrată prin următoarele experienţe:observaţi figurile de mai jos, care reprezintă în acelaşi timp o vază sau 2 profile(A); un iepure sau boboc de raţă(C); o femeie tînără sau bătrînă(B)(Fig.100).Observarea unei figuri sau alteia, depinde de selectarea caracterelor principale şi secundare (de fond).Astfel, pe Fig.A, dacă concentrăm atenţia asupra vazei albe, atunci profilele negre vor fi incluse în fond şi devin neobservate. Dacă cele două figii albe (Fig.C), ce pleacă din partea stîngă a capului, vor fi percepute ca un cioc, vom vedea o raţă şi nu vom concentra atenţia asupra trasăturilor din partea dreaptă, care reprezintă gura şi nasul

A

C

B

Fig.100. A-vază sau 2 profile;B-femeie tînără sau bătrînă; C-iepure sau boboc de raţă?

iepurelui.Concentrînd invers atenţia, fîşiile albe ne apar drept urechile iepurelui.

Dacă liniile haşurate de sub coafură(Fig.B), le imaginăm ca gene şi nas, ne apare un tablou de femeie tînără cu capul îndreptat spre dreapta sa.Dacă nu observăm aceste detalii şi ne concentrăm atenţia numai asupra contururilor mari, ne apare un tablou de femeie în vîrstă, cu un nas coroiat şi cu bărbia ascunsă în blană.

Intrebări:Cum explicaţi posibilitatea controlului aferentaţiei prin mecanismul aferenţaţiei inverse? Daţi cîteva exemple din care să rezulte posibilitatea controlului de către etajele nervoase superioare a cantităţii de informaţie ce pătrunde în SNC.

BCU IASI CENTRAL UNIVERSITARY

ANEXE

Fig.101.Muşchii piciorului stîng de pe faţa dorsală a broaştei(Rana esculenta) după Ecker.

1-m.coccygeo-iliacus;2-m. gluteus;3-m.pyriformis; 4-m.vastus externus;5-m. triceps femoris;6-m.tensor fasciae latae;7-m.gracilis (drept intern)minor;8-m.semimembranosus;9-m.ileofibularis;10-m.gastrocnemius; 11-m.tibialis anticus; 12-m.peroneus.

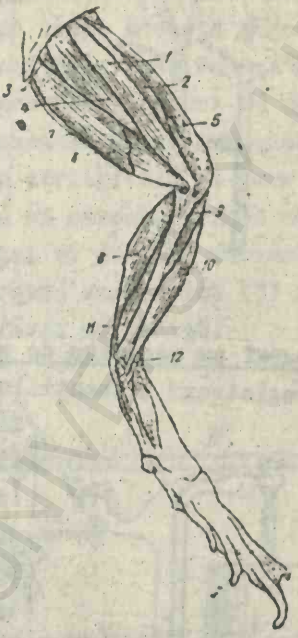


Fig.102.Muşchii piciorului stîng de pe faţa ventrală a broaştei(Rana esculenta) după Ecker.

1-m.sartorius;2-m.adductor longus;3-m.adductor brevis; 4-m.adductor magnus;5-m.vastus internus triceps femoris; 6-m.gracilis(drept intern) major;7-m.gracilis minor; 8-m.gastrocnemius;9-m.extensor cruris(coapsei);10-m.tibialis anticus; 11-m.tibialis posticus;12-m.flexor tarsi.

BCU IAŞI - CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Diferite tipuri de electrozi folosiţi în stereotaxie(Fig.102).

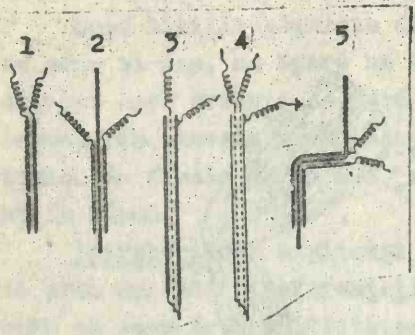


Fig.102. 1-electrozi bipolari; 2-electrozi bipolari cu o sîrmă de fixare; 3-electrozi concentrici; 4-electrozi bipolari, ecranaţi printr-un ac de seringă; 5-electrozi de implantare(îndoiturile permit o fixare mai bună de craniu); sîrma din centru permite fixarea la portelectrodul din aparatul stereotaxic.Confecţionarea electrozilor- ca în lucrarea 18.

Kimograf cu mecanism de ceas.Este folosit frecvent ca suprafaţă de înregistrare a funcţiilor.Orice tip de kimograf trebuie să îndeplinească următoarele condiţii: viteza kimografului să fie reglabilă, iar pe de altă parte, kimograful aranjat la o anumită viteză, trebuie să se rotească uniform.Funcţionarea: se întoarce mecanismul de ceasornic(3 Fig. 103) cu ajutorul cheii(8).Se înlătură piedica(7), cînd începe derularea arcului mecanismului de ceasornic, ce pune în mişcare bara transversală(9) pe care se află un cursor(4), ce vine în contact cu baza cilindrului(2).Viteza cilindrului se modifică cu ajutorul paletei(fluturaş) (5), care este cuplată la mecanismul de derulare a arcului ceasornicului.Cu cît mărimea paletei este mai mare, frecarea cu aerul este mai mare; viteza de derulare a arcului- mai redusă şi în consecinţă viteza cilindrului va fi mai mică.Viteza cilindrului se poate modifica şi cu ajutorul cursorului(4) : prin apropierea lui de centru, viteza creşte.De ce? Cînd dorim să deplasăm cursorul, saltăm baza cilindrului cu pîrghia (6) şi în felul acesta evităm frecarea cursorului de baza cilindrului.

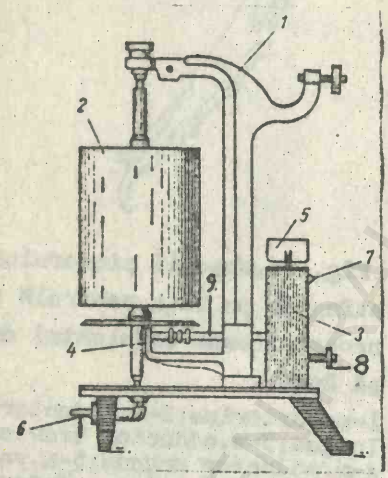


Fig.103.

Dacă viteza de desfăşurare a unei funcţii este mare şi dorim să înregistrăm fiecare detaliu al funcţiei respective, vom folosi

o viteză mare a kimografului şi invers.

Miograf Marey. Este unul din cele mai obişnuite aparate, pentru înregistrarea contracţiilor musculare.Este format dintr-o masă metalică(A Fig.104), fixată cu o virolă (B) de un suport. Pentru a modifica înclinarea întregului dispozitiv, se foloseşte pîrghia excentrică(1), care execută brusc această mişcare, sau un şurub micrometric (2), ce deplasează lent masa.Peniţa înscriitoare (P) este o pîrghie de gradul I, care are un punct de sprijin (S), braţul rezistenţei (R) fiind reprezentat de o lamă elastică, iar pe braţul forţei (a) este fixat un cîrlig (c), de care se leagă muşchiul.Cîrligul se află fixat pe un cursor, prin a cărui deplasare se poate modifica braţul forţei şi de aici mărimea amplificării funcţiei înregistrate.Cum? Pîrghia excentrică (3) permite întinderea adecvată a preparatului fixat de peniţă.

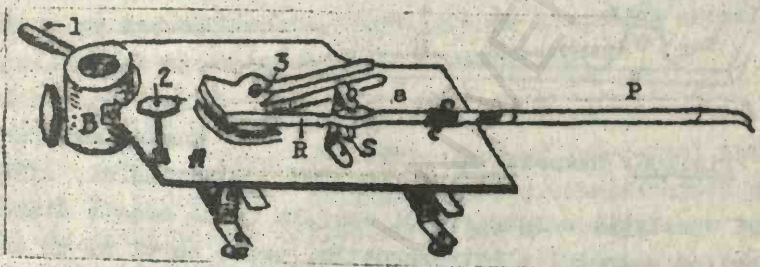


Fig.104.Miograf Marey.Explicaţia în text.

Semnal electromagnetic a lui Déprèz (Fig.105), este aparatul care marchează pe grafic momentul aplicării excitantului electric. Este format dintr-un electromagnet, care în momentul alimentării cu un curent electric continuu, ce pătrunde prin cele 2 borne(b, b_1) ale sale, atrage o bucată de fier moale (e), de care este atagată o peniţă înscriitoare (p).După întreruperea curentului, placa de fier moale împreună cu peniţa înscriitoare, revin la poziţia iniţială graţie unui resort(r).

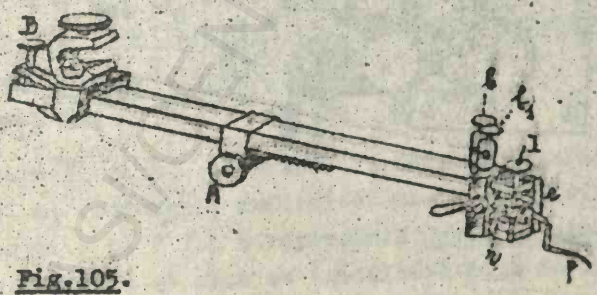


Fig.105.

Odată fixat pe suport, semnalul poate fi deplasat pe orizonta-

lă cu ajutorul cremalierei A, iar pe verticală- cu ajutorul şurubului micrometric(1).

Diapazonul electric (Fig.106) funcţionează ca un autoîntrerupător de curent cu o frecvenţă de 100 Hz.In momentul cînd prin cele 2 borne(1) pătrunde curentul continuu, electromagnetul (e) atrage braţul diapazonului şi în felul acesta întrerupe circuitul la nivelul contactului (a,b).După întreruperea circuitului şi demagnetizării electromagnetului, braţul diapazonului revine la poziţia iniţială, datorită elasticităţii sale şi închide circuitul electric.Intremuperile succesive ale curentului sînt recepţionate de către semnalul electromagnetic, care marchează pe grafic o serie de oscilaţii cu frecvenţa de 100 Hz. Cunoscînd frecvenţa curentului, aflăm durata unei oscilaţii complete(0,01 sec).In felul acesta diapazonul combinat cu semnalul electromagnetic, poate servi ca un cronograf.

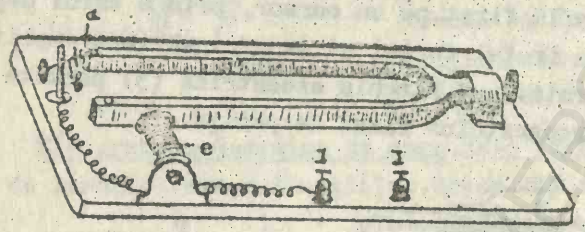


Fig.106. Diapazon electric.

Pentru înscrierea timpului la un interval mai mare de 0,01 sec se folosesc cronografe cu mecanism de ceasornic, ca de exemplu cronograful lui Jaquet(Fig.107), care marchează 1 sec sau 1/5 sec.

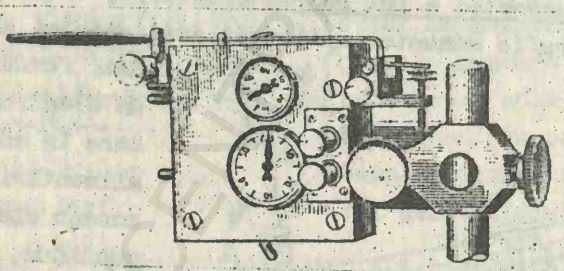


Fig.107.Cronograful lui Jaquet.

NOTIUNI DE CALCUL STATISTIC.

Rezultatele experimentale se reprezintă obişnuit sub formă de medie aritmetică ($\bar{x}$) $\pm$ eroarea standard (E.S).

$\bar{X}=\frac{\Sigma X_i}{n}$ în care Σ= suma; X_i= valorile individuale, iar n= numărul de experienţe luate în calcul.

Eroarea standard ne indică gradul de împrăştiere a valorilor în jurul valorii medii.Ea se calculează după următoarea formulă:

$$E.S.=\pm\sqrt{\frac{\Sigma d^2}{n(n-1)}}$$ în care Σd^2 reprezintă suma pătratelor deviaţiilor fiecărei valori faţă de valoarea $\bar{X}$. In acest scop se calculează diferenţa fiecărei valori faţă de valoarea mediei; se ridică la pătrat diferenţa, după care se însumează pătratele deviaţiilor. n reprezintă numărul de observaţii.

Majoritatea cercetătorilor sînt de părere ca să se ia în consideraţie numai diferenţele dintre loturi, care sînt asigurate din punct de vedere statistic.Ca măsură a semnificaţiei serveşte pragul de semnificaţie (p).Valoarea cea mai mică, care se consideră semnificativă din punct de vedere statistic, este considerată valoarea $p<0,05$.Aceasta înseamnă că admitem să ne înşelăm în mai puţin de 5% din cazuri cercetate,că lotul II este identic cu primul lot.Cu cît valoarea p este mai mică (0,05 ⟶ 0,001) cu atît semnificaţia creşte.

Pentru a cunoaşte pragul de semnificaţie (p), se calculează testul de semnificaţie, testul t a lui Student:

$$t=\frac{\bar{X}_1-\bar{X}_2}{S}\cdot\sqrt{\frac{n_1\,n_2}{n_1+n_2}}$$

în care $\bar{X}_1$ şi $\bar{X}_2$ sînt mediile celor 2 loturi, care se compară; n_1 şi n_2 reprezintă numărul de observaţii (cifre) luate în calcul la lotul 1 şi 2 iar S reprezintă deviaţia standard mixtă pentru ambele loturi şi care se calculează după formula:

$$S=\sqrt{\frac{\Sigma d_1^2+\Sigma d_2^2}{n'}}$$ în care Σd_1^2 reprezintă suma pătratelor deviaţiilor la lotul 1 şi respectiv 2 (Σd_1^2) iar n' sînt gradele de libertate ale distribuţiei şi se calculează din: n_1+n_2-2.

Cunoscînd valoarea t,rezultată din calcul, şi gradele de li-

bertate (n') pentru loturile ce se compară, se poate afla valoarea pragului de semnificaţie (p) pe baza tabelului de mai jos.

Tabel pentru calculul probabilităţii de asigurare statistică.

n' \ p	0,1	0,05	0,02	0,01	0,002	0,001
1	6,31	12,70	31,82	63,70	318,30	637,0
2	2,92	4,30	6,97	9,92	22,33	31,6
3	2,35	3,18	4,54	5,84	10,22	22,9
4	2,13	2,78	3,75	4,60	7,17	8,61
5	2,01	2,57	3,37	4,03	5,89	6,86
6	1,94	2,45	3,14	3,71	5,21	5,96
7	1,89	2,36	3,00	3,50	4,79	5,40
8	1,86	2,31	2,90	3,36	4,50	5,04
9	1,83	2,26	2,82	3,25	4,30	4,78
10	1,81	2,23	2,76	3,17	4,14	4,59
11	1,80	2,20	2,72	3,11	4,03	4,44
12	1,78	2,18	2,68	3,05	3,93	4,32
13	1,77	2,16	2,65	3,01	3,85	4,22
14	1,76	2,14	2,62	2,98	3,79	4,14
15	1,75	2,13	2,60	2,95	3,73	4,07
16	1,75	2,12	2,58	2,92	3,69	4,01
17	1,74	2,11	2,57	2,90	3,65	3,96
18	1,73	2,10	2,55	2,88	3,61	3,92
19	1,73	2,09	2,54	2,86	3,58	3,88
20	1,73	2,09	2,53	2,85	3,55	3,85
21	1,72	2,08	2,52	2,83	3,53	3,82
22	1,72	2,07	2,51	2,82	3,51	3,79
23	1,71	2,07	2,50	2,81	3,49	3,77
24	1,71	2,06	2,49	2,30	3,47	3,74
25	1,71	2,06	2,49	2,79	3,45	3,72
26	1,71	2,06	2,48	2,78	3,44	3,71
27	1,71	2,05	2,47	2,77	3,42	3,69
28	1,70	2,05	2,47	2,76	3,41	3,67
29	1,70	2,05	2,46	2,76	3,40	3,66
30	1,70	2,04	2,46	2,75	3,39	3,65
31	1,70	2,04	2,46	2,75	3,38	3,64
32	1,70	2,04	2,45	2,74	3,38	3,63

n' \ p	0,1	0,05	0,02	0,01	0,002	0,001
33	1,70	2,04	2,45	2,74	3,37	3,62
34	1,69	2,03	2,44	2,73	3,36	3,61
35	1,69	2,03	2,44	2,73	3,35	3,60
36	1,69	2,03	2,43	2,72	3,34	3,59
37	1,69	2,03	2,43	2,72	3,33	3,59
38	1,69	2,03	2,43	2,71	3,32	3,57
39	1,69	2,02	2,43	2,71	3,31	3,56
40	1,68	2,02	2,42	2,70	3,31	3,55
41	1,68	2,02	2,42	2,70	3,30	3,54
42	1,68	2,02	2,42	2,70	3,30	3,53
43	1,68	2,02	2,42	2,69	3,30	3,53
44	1,68	2,02	2,42	2,69	3,29	3,52
45	1,68	2,01	2,42	2,69	3,29	3,52
46	1,68	2,01	2,41	2,68	3,28	3,51
47	1,68	2,01	2,41	2,68	3,27	3,51
48	1,68	2,01	2,41	2,68	3,26	3,50
49	1,68	2,01	2,41	2,68	3,26	3,50
50	1,67	2,009	2,403	2,678	3,25	3,495
60	1,67	2,00	2,39	2,66	3,23	3,46
70	1,67	2,00	2,39	2,66	3,21	3,44
80	1,66	1,99	2,38	2,65	3,20	3,42
90	1,66	1,99	2,37	2,64	3,19	3,40
100	1,66	1,99	2,37	2,63	3,18	3,38
120	1,66	1,98	2,36	2,62	3,17	3,37
200	1,65	1,972	2,345	2,601	3,14	3,339
	1,64	1,960	2,326	2,576	3,09	3,291

De exemplu, dacă t este 3,40 pentru n' = 5 atunci p este mai mic decît 0,02.

Prescurtări folosite în text.

n=nerv ms. sau msec.=milisecunde vz.=vezi

m=muşchi s sau sec. =secunde

BIBLIOGRAFIE.

Andrew,B.L.:Experimental Physiology.Churchill Livingstone Edinburg and London.1972

Baciu,I.:Fiziologie.Ed.did.ped.Bucureşti 1970

Batuev,A.,Nikitina,I.:Malîi praktikum po fiziologhii celoveka i jivotnîh.Vîşgaia şcola,Moskva 1967

Benetato,Gr.:Elemente de fiziologie normală şi patologică.Ed. med. Bucureşti 1962

Best,C.H.,Taylor,N.B.:The physiological basis of medical practice. The Williams et Wilkins Comp.Baltimore,Md. 1966

Bilibin,D.P.,Vetcinkina,K.T.,Vlasova,I.G.şi col:Praktikum po fiziologhii (K.M.Kullanda Ed.) Izd.Med.Moskva 1970

Bures,J.,Petran,M.,Zachar,J.:Elektrofiziologhiceskie metodî issledovania.IIL Moskva 1962.

Cărare,N.,Rotaru,C.:Lucrări practice de fiziologie.IMF Iaşi 1975

Cotruţ,M.:Fiziologia animalelor domestice.Ed.did.ped.Bucureşti 1975

Cotruţ,M.:Lucrări practice la cursul de fiziologie a animalelor domestice.Ed.did.ped.Bucureşti 1965

Dimitriev,A.S.:Fiziologhia vîşgei nervnoi deiatelinosti.Moskva vîşgaia şcola 1974

Groza,P.:Fiziologie umană.Ed.med.Bucureşti 1974

Guyton ,A.C.:Textbook of medical physiology.Saunders Comp.1971

Haulică I.:Sistemul nervos vegetativ.Ed.med.1975

Harris,D.T.,Gilding,H.P.,Smart,W.A.:Experimental physiology for medical students.J.et Churchill Ltd.London 1956

Hoar,W.,Hickman,C.:A laboratory companion for general and comparative physiology.Prentice-Hall Inc.Englewood Cliffs New Jersey 1967.

Jitariu,M.,Alexa,E.:Lucrări practice de electrofiziologie.Univ. "Al.I.Cuza" Iaşi 1951.

Kogan,A.B.,Scitov,S.I.:Tehnica fiziologhicesckogo ecsperimenta Bolşoi praktikum po fiziologhii celoveka i jivotnîh. Moskva 1967.

Makarov,P.O.:Praktikum po fiziologhii i biofiziche organov ciuvstanalizatorov.Moskva Vîşgaia şcola.1973

BCU IAŞI CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

Milner,P.M.:Physiological Psychology.N.Y.-London 1970
Nastuk,W.L.(Ed.):Physical techniques in biological research Vol. V A, Acad.Press N.Y.-London 1964
Pora,E.,Roşca,D.,Farcaşan,V.:Tehnica pentru lucrări de fiziologie animală.Braşov,Lit.inv. 1955
Prosser,C.L.:Comparative animal physiology.W.B.Saunders Comp. Philadelphia-London-Toronto 1973.
Santa,N.,Jitariu,P.: Fiziologia animalelor şi a omului.Ed.did. ped. Bucureşti 1970
Skinner,J.E.:Neuroscience:A laboratory manual.W.B.Saunders Comp. Philadelphia-London-Toronto 1971
Stoica,M.,Mihăilescu,I:Lucrări practice de anatomie şi fiziologie animală.Ed.dod.ped.Bucureşti 1974.
Szentágothai,J.,Flerko,B.,Mess,B.,Halász,B.:Hypothalamic control of the anterior pituitary.Akad.Kiado.Budapest 1968
Voronin,L.G.,Kolbanovskii,V.,Maş,R.D.:Fiziologhia vîşşei nervnoi deiatelinosti i psihologhiia.Izd.Proscveşceniaia Moskva 1970
Zilov,G.N.,Magnitkii,A.N.,Makaricev,A.I.et al.:Lucrări practice de fiziologie.Ed. stat lit. şt.Bucureşti 1954.

BCU IASI/CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

BCU IASI/CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

BCU IASI/CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

BCU IASI/CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

BCU IAS/CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

BCU IASI/CENTRAL UNIVERSITY LIBRARY

.01